

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL  
EDEILSON VITOR GONZAGA

FORMAS SÓLIDAS DOS INGREDIENTES FARMACÊUTICOS ATIVOS  
(IFA) DOXAZOSINA E FLUCONAZOL E SEU IMPACTO EM  
PROPRIEDADES FARMACÊUTICAS

ALFENAS/MG

2019

EDEILSON VITOR GONZAGA

FORMAS SÓLIDAS DOS INGREDIENTES FARMACÊUTICOS ATIVOS  
(IFA) DOXAZOSINA E FLUCONAZOL E SEU IMPACTO EM  
PROPRIEDADES FARMACÊUTICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de  
Alfenas, como parte dos requisitos para a obtenção  
do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.  
Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto

ALFENAS/MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Gonzaga, Edeilson Vitor.

G642f Formas sólidas dos ingredientes farmacêuticos ativos (IFA) doxazosina e fluconazol e seu impacto em propriedades farmacêuticas / Edeilson Vitor Gonzaga -- Afenas/MG, 2019.  
163 f. : il. --

Orientador: Antonio Carlos Doriguetto.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, 2019.

Bibliografia.

1. Doxazossina. 2. Fluconazol. 3. Insumos Farmacêuticos. 4. Solubilidade. 5. Polimorfismo. I. Doriguetto, Antonio Carlos. II. Título.

CDD-615.19

**EDEILSON VITOR GONZAGA**

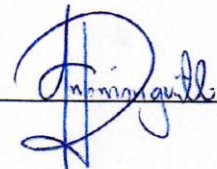
**“Formas sólidas dos ingredientes farmacêuticos ativos (Ifa) doxazosina e fluconazol e seu impacto em propriedades farmacêuticas”**

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovado em: 04 / 10 / 2019

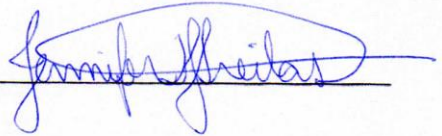
Prof. Dr. Antonio Carlos Doriguetto  
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_



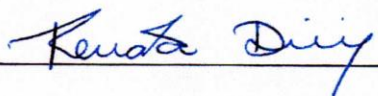
Dra. Jennifer Tavares Jacon Freitas  
Instituição: UFMG

Assinatura: \_\_\_\_\_



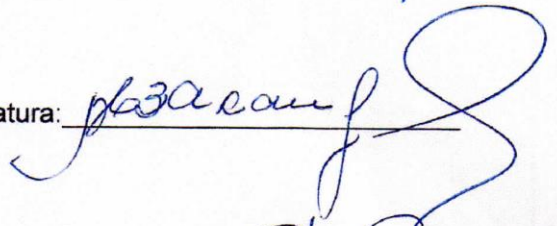
Profa. Dra. Renata Diniz  
Instituição: UFMG

Assinatura: \_\_\_\_\_



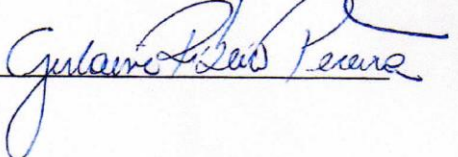
Profa. Dra. Magali Benjamim de Araújo  
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_



Profa. Dra. Gislaine Ribeiro Pereira  
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_



*Dedico esta tese a toda minha família e principalmente a Deus, por me dar essa grande oportunidade e a chance de poder realizar mais um sonho. “Um sonho jamais poderá ser realizado sem antes sonhá-lo.”*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida e a capacidade de poder sonhar e de poder lutar por estes sonhos.

Não posso deixar de agradecer meu pai, minha mãe, irmãos, tios (tio Bilo *in memoriam*) e em especial minha esposa (Vanessa) pelo apoio, presença, incentivo, paciência e presença constante durante este período de estudos sempre me motivando.

Agradeço meu orientador Antonio Carlos Doriguetto pelos ensinamentos, dedicação e atenção aos estudos realizados durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas, ao Instituto de Química e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de estar completando este doutorado.

A Capes e à UNIFAL-MG pelo apoio financeiro.

Ao NCQ, Labiq e Lacfar da UNIFAL-MG por me ajudarem durante as pesquisas e me fornecerem todos os aparatos necessários para a realização de um bom trabalho.

Ao LabCri da UFMG-MG pelas análises de difração de raios X por monocristal.

Ao Laboratório de Cristalografia da UFJF (Professor Cuin) pelas medidas de raios X por policristais e auxílio na tentativa de determinação estrutural da forma H do mesilato de doxazosina por policristais.

Ao grupo de cristalografia pelos novos conhecimentos e ajudas durante todo este período.

Aos amigos André, Olímpia e Jennifer que sempre me ajudaram e sempre me apoiaram.

Aos co-autores do artigo publicado para a doxazosina.

Aos colegas do Grupo Cimed pelo apoio na reta final desta tese, em especial à equipe de pré-formulação.

Todos os amigos e colegas da iniciação científica e pós-graduação que de alguma maneira me ajudaram na idealização e realização deste trabalho.

Por fim agradeço a todos que de alguma forma contribuíram ou torceram pela realização de mais esta conquista em minha vida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

O tema dessa tese de doutorado contempla os desafios e oportunidades proporcionados pelos diferentes arranjos supramoleculares que um Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) pode adotar no estado sólido, incluindo sólidos amorfos e formas cristalinas mono e multicomponentes e seus polimorfos. Em específico, este trabalho teve como objetivo estudar algumas formas sólidas dos IFA doxazosina (DXZ) e fluconazol (FLU), constituintes de medicamentos usados no tratamento de hiperplasia prostática benigna e infecções fúngicas, respectivamente. A motivação inicial para se trabalhar com esses IFA foi o número expressivo de formas cristalinas, incluindo polimorfos, hidratos e sais, reportados na literatura, muitas sem estrutura cristalina reportada e/ou comparação de suas propriedades físico-químicas de interesse farmacêutico. Neste trabalho foi determinada pela primeira vez a estrutura cristalina da base livre da DXZ (DXZ-BL), a qual teve sua solubilidade em equilíbrio, em diferentes meios aquosos, comparada com dois polimorfos conhecidos do mesilato de DXZ (DXZM) (forma salina utilizada em medicamentos): as formas H e A. Os resultados mostraram que as três formas comparadas neste estudo são insolúveis ou muito pouco solúveis em intervalos de pH neutro a ligeiramente ácido. A DXZ-BL apresentou solubilidade significativa apenas no meio ácido, mas inferior aos valores obtidos para o DXZM-H e DXZM-A, o que justifica a necessidade de usar a forma salina para melhorar a solubilidade do IFA. Por meio da comparação de suas solubilidades e ponto de fusão (estabelecido por calorimetria exploratória diferencial (DSC)), o DXZM-A mostrou-se mais estável do que o DXZM-H, o que se leva a sugerir a utilização do DXZM-A como polimorfo mais adequado para formulações sólidas desse medicamento. Para o FLU, demonstrou-se que as matérias-primas (IFA) e algumas formulações do FLU estudadas nesse trabalho são/contém misturas físicas binárias constituídas do polimorfo 5 (FLU-5), e da forma monohidratada do FLU (FLU-H<sub>2</sub>O). Os estudos de estabilidade realizados em zona climática IV-b (Brasil) mostraram que os IFA e as formulações contendo mistura de FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O tendem a ter o FLU-5 convertido ao FLU-H<sub>2</sub>O. A coexistência dessas fases e a conversão de fase observada motivou a realização de um estudo térmico partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O puro, o qual foi obtido, de maneira inovadora nesse trabalho, por meio de moagem mecânica (mecanoquímica) assistida por adição de solvente (água) à uma das matérias-primas contendo FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O. O estudo térmico realizado confirmou que o anidrato formado a partir da desidratação via aquecimento do FLU-H<sub>2</sub>O é o FLU-5. Mostrou-se ainda que o FLU-5 funde sem decomposição e que a solidificação do FLU fundido leva a formação de um sólido amorfo (FLU-amorfo) que se transforma novamente em FLU-5 se submetido a outro aquecimento. As temperaturas de cada transição foram estabelecidas por DSC e as fases formadas identificadas por difração de raios X por policristais (DRXP). Adicionalmente, foi demonstrada a formação de uma fase cristalina anidra metaestável do FLU (um novo polimorfo, FLU-10) obtida a partir do envelhecimento do FLU amorfo (material fresco da solidificação do FLU fundido) com estrutura isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O (exceto pela presença de água). Finalmente, foi realizado um estudo comparando a solubilidade em equilíbrio de uma das matérias-primas do FLU (MP-FLU = FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O), do FLU-5 puro, do FLU-H<sub>2</sub>O puro e do FLU-amorfo, sendo demonstrado não haver diferença significativa de solubilidade entre as formas no mesmo meio. Foi ainda demonstrado que o FLU-5 e o anidrato isomórfico ao FLU-H<sub>2</sub>O (FLU-amorfo) contido nas amostras originais se transformam no FLU-H<sub>2</sub>O durante o experimento de solubilidade. Esses resultados sugerem que tanto o FLU-5 quanto o FLU-H<sub>2</sub>O ou a mistura destes podem ser usados para preparar ou estar presentes em formulações do FLU, considerando a biodisponibilidade esperada no fármaco.

Palavras chaves: Doxazosina. Fluconazol. Estrutura cristalina. Solubilidade de IFA.

## ABSTRACT

This doctoral thesis addressed the challenges and opportunities in the pharmaceutical field provided by the different supramolecular arrangements that an Active Pharmaceutical Ingredient (API) can adopt in the solid state, including the amorphous, mono and multicomponent crystalline forms and their polymorphs. This work aimed to study some of the doxazosin (DXZ) and fluconazole (FLU) API solid forms, constituents of medicines used in the treatment of benign prostatic hyperplasia and fungal infection, respectively. These API has been chosen due to the significant number of crystalline forms, including polymorphs, hydrates and salts, reported in the literature, and some of these, without reported crystal structure and/or without evaluation of their physicochemical properties of pharmaceutical interest. In the case of DXZ, the crystal structure of DXZ free base (DXZ-FB) was first determined here, which had its equilibrium solubility carried out in different aqueous media compared to two known polymorphs of DXZ mesylate (DXZM) (form used in DXZ medicines). The results showed that the three DXZ forms are insoluble or poorly soluble at neutral to slightly acidic pH ranges. DXZ-FB showed the higher solubility in the acid medium, but lower than the values obtained for DXZM-H and DXZM-A, which justifies the need to use the saline form to improve the drug solubility. It was also shown, by comparing its solubilities and melting point (established by differential exploratory calorimetry (DSC)), that DXZM-A is more stable than DXZM-H, which suggests that DXZM-A as the most suitable polymorph for solid formulations. For FLU, it has been shown that the raw materials (API) and some FLU formulations studied are/contain binary physical mixtures consisting of polymorph 5 (FLU-5), and the FLU monohydrate form (FLU-H<sub>2</sub>O). Long-term stability studies (IVb zone-Brazil) showed that the raw material and drug products that contain FLU-5 or FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O (binary mixture) converted to FLU-H<sub>2</sub>O. From this result, a thermal study starting by the pure FLU-H<sub>2</sub>O was evaluated. The mechanical grinding (mechanochemical) assisted by adding solvent (water) was used for the obtention of the pure FLU-H<sub>2</sub>O. The thermal study confirmed that the anhydrate formed from the FLU-H<sub>2</sub>O dehydration was the FLU-5, which melts without decomposition. The solidification of the molten FLU generated an amorphous solid (FLU-amorphous) which converted into FLU-5 again upon further heating and recrystallization. The transitions temperatures were established by DSC and the phases were identified by powder X-ray diffraction (PXRD). In addition, the formation of a metastable anhydrous crystalline phase of FLU (a new polymorph, FLU-10) was observed from the crystallization of the amorphous FLU, which has isomorphic structure to FLU-H<sub>2</sub>O (except for presence of water). Finally, a study comparing the equilibrium solubility values of the raw material of FLU (MP-FLU = FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O), pure FLU-5, pure FLU-H<sub>2</sub>O and FLU-amorphous showed no significative difference in the same medium. It has also been shown that all studied forms converted in FLU-H<sub>2</sub>O during the solubility experiment. These results suggest that both FLU-5 and FLU-H<sub>2</sub>O or a mixture thereof may be used to prepare or be present in FLU formulations, considering the expected bioavailability of the drug.

Keywords: Doxazosin. Fluconazole. Crystal Structure. Drug Solubility.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
ATR - Reflectância Total Atenuada  
CCDC - Cambridge Crystallographic Data Center  
CIF - Crystallographic Information Framework  
CSD - Cambridge Structural Database  
d.m.q.m - Desvio da raiz quadrática média  
DRXM - Difração de Raios X por Monocristal  
DRXP - Difração de Raios X por Policristais  
DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial  
DTA - Análise Térmica Diferencial  
DXZ - Doxazosina  
DXZ-BL - Doxazosina Base Livre  
DXZM - Mesilato de Doxazosina  
DXZM-A - Mesilato de Doxazosina forma A  
DXZM-dG - Mesilato de Doxazosina forma diidratada  
DXZM-H - Mesilato de Doxazosina forma H  
FDA - Food and Drug Administration  
FLU - Fluconazol  
FLU-5 - Polimorfo 5 do Fluconazol  
FLU-H<sub>2</sub>O - Fluconazol monoidratado  
FT - Transformada de Fourier  
HPB - Hiperplasia Prostática Benigna  
ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use  
IFA - Ingrediente Farmacêutico Ativo  
IV - Infravermelho  
MP-FLU - Matéria-prima do Fluconazol  
OMS - Organização Mundial de Saúde  
SCB - Sistema de Classificação Biofarmacêutica  
TG - Análise Termogravimétrica  
TG-DTA - Análise Termogravimétrica acoplada à Análise Térmica Diferencial

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - Representação esquemática da classificação de formas sólidas envolvendo compostos orgânicos incluindo moléculas de IFA. ....   | 22 |
| Figura 2 - Representação esquemática dos sais de IFA. ....  | 23 |
| Figura 3 - Representação dos tipos de água que podem compor uma molécula orgânica, em (a) água ligada a molécula do IFA (ligações de H), em (b) água de canais e em (c) água como ligante completando a coordenação em torno de um íon metálico ..... | 26 |
| Figura 4 - Padrões de difração de raios X por policristais calculados para os polimorfos (a) 4 e (b) 6 do fluconazol a partir dos cif: IVUQOF01 e IVUQOF03, respectivamente (KARANAN, et al., 2012).....  | 33 |
| Figura 5 - Espectros de IV das matérias-primas (I e II) do alendronato de sódio comparados ao espectro de IV da forma anidra do IFA.....  | 35 |
| Figura 6 - Espectros de IV na região de fingerprint da forma A (linha sólida) e forma B (linhas tracejadas) da famotidina (BRITAIN, 2006). ....   | 35 |
| Figura 7 - Técnicas de cristalização/recristalização e tempo envolvido nas pesquisas de novas formas sólidas de IFA. ....   | 42 |
| Figura 8 - Representação esquemática das técnicas de recristalização, em (a) evaporação lenta de solventes e em (b) difusão de vapor/anti-solvente.....   | 44 |
| Figura 9 - Representação esquemática da técnica de mecanoquímica: Em (A) mostra-se a possibilidade que a técnica dá de poder acompanhar as reações in situ e em (B) mostra a obtenção esquemática de co-cristais através da mecanoquímica. ....       | 46 |
| Figura 10 - Representação esquemática da estrutura molecular da (a) DXZ e do (b) DXZM. ....   | 48 |
| Figura 11 - Representação esquemática da estrutura molecular do FLU destacando por meio de linhas tracejadas os grupos envolvidos na protonação/desprotonação da molécula. ....   | 52 |
| Figura 12 - Moinho de bolas utilizado na recristalização do FLU-H <sub>2</sub> O por mecanoquímica. ....  | 64 |
| Figura 13 - Protocolo de caracterizações (quatro) e aquecimentos (três) partindo-se do FLU-H <sub>2</sub> O. As setas largas verticais ilustram as caracterizações por DRXP, DSC e TG-DTA feitas depois de as amostras serem retornadas a temperatura |    |

- ambiente. .... 70
- Figura 14 - Representação ORTEP da DXZ-BL com identificação arbitrária dos átomos não-hidrogenoides. Os átomos de H são representados como esferas de raio arbitrário e os elipsoides dos átomos não-H a 50% de probabilidade. .... 77
- Figura 15 - Sobreposição dos esqueletos da DXZ-BL (ciano), DXZM-dG (magenta) e DXZM-A (laranja). As estruturas da DXZ-BL e DXZM-dG foram sobrepostas, considerando todos os átomos homólogos não-hidrogenoides usando software MERCURY, sem forçar a flexibilidade e a inversão das moléculas. As estruturas de DXZ-BL e DXZM-A foram sobrepostas sem considerar os átomos homólogos do fragmento quinazolina das estruturas. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza. Círculos pretos tracejados destacam a planaridade ou não das metoxílicas.....78
- Figura 16 - Esqueletos moleculares da DXZ-BL (a) e do análogo 4-dimetilamino DXZ (b) mostram o isomerismo cis-trans envolvendo os átomos O3 e O4. Em (c) os dois esqueletos são sobrepostos destacando que as duas estruturas diferem pela rotação de seus anéis de benzodioxano ao redor da ligação N15–C16. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza. Círculos pretos tracejados destacam os diferentes isômeros. .... 79
- Figura 17 - Representação do empacotamento parcial da DXZ-BL vista normal ao plano (-121) (direções horizontal e vertical paralelas às direções cristalográficas [111] e [101], respectivamente) mostrando o padrão de ligação H que estabilizam uma rede unidimensional infinita (cadeias duplas) ao longo da direção [111]. Ligações de H representadas pelas linhas tracejadas em ciano. Os átomos de H não envolvidos nas ligações foram omitidos para melhor clareza. Códigos de simetria: i -x+2, -y+2, -z-1; ii -x+1, -y+1, -z..... 79
- Figura 18 - Visão do empacotamento da DXZ-BL destacando as camadas planas supramoleculares (uma rede bidimensional destacada pelos planos dos mínimos quadrados (em verde), através das moléculas no empacotamento parcial) paralelo ao plano (-121). As ligações de hidrogênio são representadas por linhas tracejadas em ciano. .... 80
- Figura 19 - O empacotamento da DXZ-BL mostrando o empilhamento das camadas, vista normal ao plano cristalográfico (101). A separação entre as camadas

|   |    |
|---|----|
| destacadas em laranja é de ~4 Å. Átomos H foram omitidos por uma questão de clareza.....  | 81 |
| Figura 20 - Representação dos contatos intermoleculares das inter-camadas estabilizadas por ligações de H não clássicas e interações CH...π-aril. As interações intermoleculares são representadas por linhas tracejadas. Ct é o centroide calculado do anel aromático. Códigos de simetria:<br>iii -x + 2, -y + 1, -z; iv -x + 1, -y + 1, -z .....                           | 81 |
| Figura 21 - Padrão experimental de DRXP da matéria-prima de DXZM comparado aos calculados de DXZM-A (CSD CIF ULIYET) e DXZM-dG (CSD CIF ULIYIX) (CHERNYSHEV, et al., 2003) e DXZ-BL (estrutura determinada aqui).....   | 82 |
| Figura 22 - Padrão experimental de DRXP da matéria-prima do DXZM (a) comparado ao padrão experimental de DRXP do DXZM-H (b) adaptado de Grcman et al. (GRCMAN, et al., 2002).....   | 83 |
| Figura 23 - Padrões de DRXP do DXZM-A experimental e calculado (a partir da estrutura cristalina determinada por Chernyshev, et al. (CIF ULIYET) (CHERNYSHEV, et al., 2003).....  | 84 |
| Figura 24 - Padrões de DRXP da DXZ-BL experimental e calculado (a partir da estrutura cristalina determinada neste trabalho).....   | 84 |
| Figura 25 - Curvas DSC das amostras DXZ-BL, DZXM-A e DZXM-H na faixa de 30 a 350 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> sob fluxo de N <sub>2</sub> (50 mL.min <sup>-1</sup> ).....   | 85 |
| Figura 26 - Curvas TG-DTA das amostras DXZ-BL (a), DZXM-A (b) e DZXM-H (c) na faixa de 30 a 500 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> sob fluxo de N <sub>2</sub> (50 mL.min <sup>-1</sup> ).....  | 86 |
| Figura 27 - Solubilidade em equilíbrio para as formas sólidas da DXZ-BL, DXZM-A e DXZM-H. Distribuição das frações molares pH-dependente da DXZ<br>$\alpha_1 = [DH^+ (sol)]/C = (1 + (K_a/[H^+]))^{-1}$ ; $\alpha_0 = [D^0(sol)]/C = \alpha_1(K_a/[H^+])$ ;<br>em que $\alpha_0 + \alpha_1 = 1$ e $C = [DH^+ (sol)] + [D^0(sol)]$ . A curva mostra o pH em passos de 0,1..... | 89 |
| Figura 28 - Padrões de DRXP do material policristalino das amostras após o estudo de solubilidade em equilíbrio para a DXZ-BL (a), DXZM-A (b) e DXZM (c).....   | 92 |
| Figura 29 - Difrátogramas experimentais de diferentes lotes e fabricantes do FLU. Em  |    |

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
|           | destaque pelas linhas tracejadas azuis estão os picos de Bragg característicos do FLU-H <sub>2</sub> O e em vermelho os picos correspondentes ao FLU-5. ....   | 94  |
| Figura 30 | - Difratomogramas experimentais de dois lotes de matéria-prima do fabricante A do FLU. Em destaque pelos círculos tracejados azuis estão mostrados os picos de Bragg característicos do FLU-H <sub>2</sub> O. ....   | 95  |
| Figura 31 | - Difratomogramas experimentais de dois lotes de matéria-prima do fabricante B do FLU. Em destaque pelas linhas tracejadas azuis estão os picos de Bragg característicos do FLU-H <sub>2</sub> O e em vermelho os picos correspondentes ao FLU-5. ....   | 95  |
| Figura 32 | - Difratomogramas experimentais (a) dos medicamentos referência, similar e genérico do FLU (b) referência comparado ao padrão calculado do FLU (CIF: IVUQIZ) e (c) similar e genérico comparados ao padrão calculado do FLU-5 (CIF: IVUQF02). ....   | 96  |
| Figura 33 | - Difratomogramas experimentais da MP-FLU lotes (a) B1 (inicial e 12 meses estabilidade LD) e (b) B2 (inicial e 12 meses estabilidade LD) comparados aos difratogramas calculados a partir de dados de difração de raios X por monocristal do FLU-5 e FLU-H <sub>2</sub> O. Em que, os picos de Bragg referentes ao FLU-5 estão destacados pelas linhas tracejadas pretas e os picos característicos do FLU-H <sub>2</sub> O estão destacados pelas setas pretas. .... | 98  |
| Figura 34 | - Difratomogramas experimentais do FLU cápsulas duras 150 mg nos tempos inicial, 12 e 24 meses de estabilidade LD comparados aos difratogramas calculados a partir de dados de difração de raios X por monocristal do FLU-5 e FLU-H <sub>2</sub> O, em destaque pelas linhas tracejadas pretas os picos de Bragg referentes ao FLU-5. ....   | 99  |
| Figura 35 | - Difratomogramas experimentais do FLU cápsulas duras 150 mg nos tempos de 12 e 24 meses de estabilidade LD comparados aos difratogramas calculados a partir de dados de difração de raios X por monocristal do FLU-H <sub>2</sub> O e difratograma experimental do placebo, em destaque pelas linhas tracejadas pretas os picos de Bragg referentes ao placebo da formulação. ....  | 100 |
| Figura 36 | - Difrátograma experimental da MP-FLU comparado aos difratogramas calculados do FLU-H <sub>2</sub> O e FLU-5. As setas pretas e vermelhas indicam alguns os picos de difração correspondentes ao FLU-H <sub>2</sub> O e ao FLU-5, respectivamente. ....  | 101 |

|  |     |
|--|-----|
| Figura 37 - Curvas de DSC e TG-DTA da MP-FLU.....  | 101 |
| Figura 38 - Difratomogramas calculado (CIF: IVUQIZ) e experimental (obtido nesse trabalho por mecanoquímica) do FLU-H <sub>2</sub> O.....  | 102 |
| Figura 39 - Curvas de TG (a) e DSC (b) do FLU-H <sub>2</sub> O.....  | 103 |
| Figura 40 - Espectro de IV do FLU-H <sub>2</sub> O entre 4000-600 cm <sup>-1</sup> (a) e sua ampliação com indicação de frequências nas faixas entre 3500-2800 cm <sup>-1</sup> (b) e 1600-800 cm <sup>-1</sup> (c)..... | 104 |
| Figura 41 - Difratomogramas experimentais do estudo térmico do FLU-H <sub>2</sub> O comparados aos difratogramas calculados do FLU-H <sub>2</sub> O e FLU-5.....   | 106 |
| Figura 42 - Curvas de TG e DSC da forma anidra (FLU-5) obtida a partir do aquecimento prévio do FLU-H <sub>2</sub> O à 115 °C por 2h. ....   | 107 |
| Figura 43 - Curvas de TG e DSC da forma “anidra” do FLU obtida a partir do FLU fundido a 150 °C. ....  | 108 |
| Figura 44 - Curvas de TG e DSC do FLU cristalino obtido a partir do aquecimento do FLU amorfo a 115 °C.....  | 109 |
| Figura 45 - Curvas de DSC cíclico partindo-se do FLU-H <sub>2</sub> O com rampas de aquecimento/resfriamento detalhadas na seção 3.7.3, Quadro 5. ....   | 111 |
| Figura 46 - Difratomogramas experimentais do sólido amorfo e do recristalizado comparados ao difratograma experimental da MP-FLU.....  | 112 |
| Figura 47 - Difratomogramas experimentais mostrando a transição da fase amorfa do FLU (amostra fresca) para uma mistura do FLU-5 e FLU-10 em função do tempo (envelhecimento da amostra). ....                           | 112 |
| Figura 48 - Solubilidade em equilíbrio para as formas sólidas do FLU (24h). Compilados da Tabela 7. ....   | 115 |
| Figura 49 - Padrões de DRXP do material policristalino em equilíbrio com a as soluções usadas no estudo de solubilidade em equilíbrio (12h) para a MP-FLU (a), FLU-H <sub>2</sub> O (b), FLU-5 (c) e amorfo (d).....     | 117 |
| Figura 50 - Padrões de DRXP do material policristalino em equilíbrio com a as soluções usadas no estudo de solubilidade em equilíbrio (24h) para a MP-FLU (a), FLU-H <sub>2</sub> O (b), FLU-5 (c) e amorfo (d).....     | 118 |
| Figura 51 - Difratomogramas experimentais das amostras 1F, 6F e 8F comparados aos padrões de DRXP calculados dos polimorfos 6 (IVUQOF03) e 7 (IVUQOF04) do FLU (KARANAM et al. 2012).....                                | 121 |

|  |     |
|--|-----|
| Figura 52 - Comparação dos empacotamentos dos polimorfos (a) 6 (IVUQOF03) e (b) 7 (IVUQOF04) do FLU visto de forma normal (perpendicular) a seus respectivos planos cristalográficos ac e bc (KARANAM et al. 2012). .....  | 121 |
| Figura 53 - Difratoograma experimental da amostra 7F comparada ao padrão de DRXP calculado do polimorfo 7 (IVUQOF04) do FLU (KARANAM et al. 2012). .....   | 122 |
| Figura 54 - Difratoogramas experimental da amostra 2F (a) e da amostra 3F (b) comparado aos padrões de DRXP calculados para o FLU-H <sub>2</sub> O IVUQIZ01 (CAIRA et al., 2004) e para os polimorfos III (IVUQOF) (CAIRA et al., 2004), 4 (IVUQOF01), 5 (IVUQOF02), 6 (IVUQOF03) e 7 (IVUQOF04) do FLU (KARANAM et al. 2012). ..... | 123 |
| Figura 55 - Difratoograma do polimorfo 4 do FLU calculado (IVUQOF01) comparado aos padrões de DRXP das recristalizações 4F e 5F. ....  | 124 |

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

|  |     |
|--|-----|
| Quadro 1 - Parâmetros de rede dos polimorfos 4 e 6 do fluconazol (KARANAN, et al., 2012)<br>.....  | 32  |
| Quadro 2 - Lista da literatura relevante/patentes reportadas com atribuições dos<br>correspondentes polimorfos do mesilato de doxazosina (hidratos não incluídos)<br>usando a notação de Grcman et al. 2002..... | 50  |
| Quadro 3 - Formas sólidas reportadas na literatura para o FLU. ....  | 55  |
| Quadro 4 - Condições de recristalizações para obtenção de novas formas cristalinas do FLU:<br>quantidade de solvente(s) e tempo de recristalização. ....   | 63  |
| Quadro 5 - Protocolos de aquecimento/resfriamento no estudo de DSC cíclico.....  | 69  |
| Quadro 6 - Diluições das amostras do estudo de solubilidade das formas sólidas do FLU.....   | 72  |
| Quadro 7 - Recristalizações/estudos realizados para as formas sólidas de DXZ e os resultados<br>obtidos.....   | 74  |
| Quadro 8 - Atribuições e número de onda do espectro de infravermelho do FLU-H <sub>2</sub> O.....  | 103 |
| Tabela 1 - Solubilidade e dissolução intrínseca de algumas formas sólidas do FLU (em água<br>deionizada a 25 °C).....  | 56  |
| Tabela 2 - Dados cristalográficos e refinamento da estrutura da DXZ-BL. ....   | 66  |
| Tabela 3 - Ligações de H para a DXZ-BL (Å e °), em que D = doador e A = acceptor. ....   | 80  |
| Tabela 4 - Dados da solubilidade em equilíbrio das formas sólidas de DXZ-BL, DXZM-A e<br>DXZM-H e os valores de pH <sub>final</sub> dos diferentes meios.....  | 89  |
| Tabela 5 - Valores da Correlação de Pearson e P(T<=t) bi-caudal obtidos pelo teste t pareado<br>para os estudos de solubilidade em equilíbrio das formas sólidas do FLU em 12 e<br>24h. ....                     | 113 |
| Tabela 6 - Dados da solubilidade em equilíbrio (12h) das formas sólidas do FLU e os valores<br>de pH <sub>final</sub> dos diferentes meios. ....   | 114 |
| Tabela 7 - Dados da solubilidade em equilíbrio (24h) das formas sólidas do FLU e os valores<br>de pH <sub>final</sub> dos diferentes meios. ....   | 114 |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 18 |
| <i>1.1 As formas sólidas e o polimorfismo de IFA</i> .....   | 18 |
| <i>1.1.1 Formas multicomponentes salinas e hidratadas de IFA</i> .....                                     | 21 |
| <i>1.1.2 O impacto das diferentes formas sólidas nas propriedades físicas e químicas de um IFA</i> .....   | 28 |
| <i>1.2 Técnicas de caracterização do estado sólido</i> .....   | 31 |
| <i>1.2.1 Difração de raios X</i> .....   | 31 |
| <i>1.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)</i> .....  | 34 |
| <i>1.2.3 Análises térmicas – Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG)</i> ..... | 36 |
| <i>1.2.4 Estudos de solubilidade em equilíbrio e dissolução intrínseca</i> .....                           | 37 |
| <i>1.3 Técnicas de cristalização/recristalização</i> .....   | 39 |
| <i>1.3.1 Evaporação lenta de solventes</i> .....   | 42 |
| <i>1.3.2 Difusão de vapor ou de anti-solvente</i> .....  | 44 |
| <i>1.3.3 Mecanoquímica</i> .....   | 44 |
| <i>1.4 Doxazosina (DXZ)</i> .....  | 46 |
| <i>1.5 Fluconazol (FLU)</i> .....  | 50 |
| <b>2 MOTIVAÇÃO X OBJETIVOS</b> .....   | 58 |
| <i>2.1 Motivação e Relevância do Tema de Estudo</i> .....  | 58 |
| <i>2.2 Objetivos</i> .....   | 59 |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 60 |
| <i>3.1 Amostras</i> .....  | 60 |
| <i>3.2 Reagentes</i> .....   | 61 |
| <i>3.3 Obtenção das formas sólidas da DXZ</i> .....  | 61 |
| <i>3.3.1 Obtenção da base livre da DXZ (DXZ-BL)</i> .....  | 61 |
| <i>3.3.2 Obtenção da forma A do DXZM (DXZM-A)</i> .....  | 62 |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.3.3 Obtenção do DXZM diidratado (DXZM-dG).....   | 62        |
| 3.3.4 Obtenção de potenciais novas formas sólidas da DXZ .....   | 62        |
| 3.4 Obtenção das formas sólidas do FLU.....  | 63        |
| 3.4.1 Recristalizações pelo método de evaporação lenta de solvente .....   | 63        |
| 3.4.2 Obtenção do FLU-H <sub>2</sub> O puro .....  | 64        |
| 3.4.3 Obtenção do FLU-5 puro .....   | 64        |
| 3.4.4 Obtenção do FLU-amorfo .....   | 65        |
| 3.5 Análises de difração de raios X por monocristal (DRXM) .....   | 65        |
| 3.6 Análises de difração de raios X por pó (DRXP).....   | 67        |
| 3.6.1 Análises de DRXP para a DXZ.....   | 67        |
| 3.6.2 Análises de DRXP para o FLU.....   | 68        |
| 3.7 Análises Térmicas (DSC e TG-DTA) .....   | 68        |
| 3.7.1 Análises de DSC e TG-DTA para a DXZ.....   | 68        |
| 3.7.2 Análises de DSC e TG-DTA para o FLU.....   | 69        |
| 3.7.3 Análises de DSC cíclico iniciando com a forma FLU.H <sub>2</sub> O .....                                   | 69        |
| 3.8 Análises por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV).....                                 | 70        |
| 3.9 Transições de fase: desidratação do FLU-H <sub>2</sub> O e solidificação do FLU fundido. ....                | 70        |
| 3.10 Cinética de cristalização a partir do sólido amorfo obtido a partir da solidificação do<br>FLU fundido..... | 71        |
| 3.11 Estudos de solubilidade em equilíbrio .....   | 71        |
| 3.11.1 Estudos de solubilidade em equilíbrio para a DXZ.....   | 71        |
| 3.11.2 Estudos de solubilidade em equilíbrio para o FLU.....   | 72        |
| 3.12 Estudos de estabilidade do IFA de FLU e do medicamento em cápsulas duras de 150 mg<br>.....                 | 73        |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>   | <b>74</b> |
| 4.1 Parte I - DXZ .....  | 74        |
| 4.1.1 Formas cristalinas obtidas e outros estudos realizados .....   | 74        |

|   |     |
|---|-----|
| <b>4.1.2 Determinação da estrutura cristalina da DXZ-BL e sua solubilidade em equilíbrio comparada aos polimorfos do DXZM A e H</b> ..... | 75  |
| <b>5.2 Parte II - FLU</b> .....   | 93  |
| <b>5.2.1 Identificação da(s) forma(s) cristalina(s) do FLU presente em amostras de matérias-primas e medicamentos</b> .....               | 93  |
| <b>5.2.2 Estudos de estabilidade do IFA e do medicamento em cápsulas duras de 150 mg de FLU</b> .....                                     | 97  |
| <b>5.2.3 Caracterização da matéria-prima do FLU utilizada nos experimentos de recristalização</b> .....                                   | 100 |
| <b>5.2.4 Caracterização do FLU-H<sub>2</sub>O obtido por moagem mecânica (mecanoquímica)</b> .....  | 102 |
| <b>5.2.5 Formas sólidas obtidas a partir da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e da solidificação do FLU fundido</b> .....                | 105 |
| <b>5.2.6 DSC cíclico partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O</b> .....  | 109 |
| <b>5.2.7 Fases formadas e cinéticas de cristalização a partir da fase amorfa do FLU recém-preparada</b> .....                             | 111 |
| <b>5.2.8 Estudo de solubilidade em equilíbrio</b> .....   | 113 |
| <b>5.2.9 Obtenção e caracterização das formas sólidas do FLU</b> .....  | 120 |
| <b>6 CONCLUSÕES</b> .....   | 126 |
| <b>6.1 Parte I - DXZ</b> .....  | 126 |
| <b>6.2 Parte II - FLU</b> .....   | 127 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....  | 129 |
| <b>ANEXO I</b> .....  | 145 |

## 1 INTRODUÇÃO

O estado sólido de um ingrediente farmacêutico ativo (IFA), que são substâncias capazes de apresentar algum tipo de atividade farmacológica, é algo que desperta muito o interesse da área acadêmica e das indústrias farmacêuticas. O entendimento das diferentes formas sólidas de um IFA e os seus impactos em propriedades físicas e químicas são as chaves para o desenvolvimento de um medicamento com qualidade, segurança e eficácia garantidas.

### *1.1 As formas sólidas e o polimorfismo de IFA*

Em sua maioria, as indústrias farmacêuticas utilizam IFA e excipientes na forma de sólidos para a produção de um medicamento, tendo preferência pelas formas cristalinas, as quais podem oferecer um melhor processo de síntese, diminuição da incorporação de impurezas e maior estabilidade química. Em se tratando do produto acabado, o medicamento, as formulações sólidas representam em torno de 65 a 70% dos IFA administrados por via oral devido às suas vantagens nas etapas de desenvolvimento, fabricação, transporte, armazenamento e dispensação em relação às formulações líquidas (BRAGA; GREPIONI; MAINI, 2010; KAWAKAMI, 2012; SHAN, et al., 2014; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017). Além disso, as formulações sólidas têm vantagens comerciais sendo mais bem aceitas pelos pacientes, principalmente os adultos jovens. Por outro lado, as formulações sólidas não têm uma boa aceitabilidade ou não são recomendados para pacientes idosos e crianças. Entretanto, com avanço da tecnologia farmacêutica, estas faixas etárias têm sido mais assistidas, o que também tem contribuído para o aumento do consumo de formulações sólidas de medicamentos (NUNN; WILLIAMS, 2005).

Uma etapa extra no processo de absorção do IFA das formulações sólidas em relação às líquidas é dissolução do sólido no trato gastrointestinal. Para isso, o IFA precisa estar solúvel nos fluidos gastrointestinais para sua posterior absorção para finalmente exercer a função esperada. Portanto, a atividade de um IFA em formulações sólidas depende da energia da rede cristalina que mantém o sólido estável. Isso pode implicar em desafios ou oportunidades uma vez que uma mesma molécula, incluindo às de IFA, podem apresentar-se de diferentes maneiras no estado sólido. E as possibilidades não se restringem a ser cristalino (arranjo periódico das moléculas = ordem a longo alcance) ou amorfo (sem ordem a longo

alcance) como o  $\alpha$ -quartzo (cristal) e vidro (amorfo), ambos formados por  $\text{SiO}_2$  (CHIENG, et al., 2009). Formas alótropas ou polimorfas (diferentes arranjos cristalinos de um elemento químico ou composto), como a observada para o carbono (grafite e diamante), para o carbonato de cálcio (calcita e aragonita) e para fósforo (branco e vermelho), são também muito frequentes entre os compostos orgânicos (KARPINSKI, 2006; DESIRAJU, 2008; BROG, et al., 2013). Por terem redes cristalinas diferentes, polimorfos podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas, a exemplo da solubilidade. Além disso, moléculas orgânicas também tendem a formar hidratos (água) e solvatos (solventes orgânicos) cristalinos. E, se a molécula possuir funções orgânicas que permitam sua protonação (a exemplo de aminas) ou desprotonação (a exemplo de ácidos carboxílicos) pode haver a formação de cristais iônicos (sal). Outra possibilidade é a formação de co-cristais que são cristais neutros (se co-cristais verdadeiros) contendo pelo menos dois coformadores que sejam sólidos quando puros à temperatura ambiente. Essa diversidade de possibilidades de apresentação de uma molécula no estado sólido, pode demandar o monitoramento da pureza da forma sólida do IFA preconizada para estar nas formulações sólidas orais de medicamentos, de forma a garantir a qualidade do medicamento (DATTA; GRANT, 2004; HILFIKER; BLATTER; VON RAUMER, 2006; LLINAS; GOODMAN, 2008; BRITAIN, 2009; AITIPAMULA, 2012; AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2014).

Na indústria farmacêutica, os desafios enfrentados quanto ao aparecimento inadvertido de uma forma sólida, quase sempre envolve a formação de polimorfos. O termo polimorfismo foi mencionado pela primeira vez para identificar três formas cristalinas do carbonato de cálcio; a calcita, a vaterita e a aragonita por Klaproth em 1788 (BRAGA, et al., 2009; BROG, et al., 2013). Somente em 1832 foi descrito o primeiro caso de polimorfismo em um composto orgânico, envolvendo a benzamida (WÖHLER; LIEBIG, 1832). Entretanto, o aumento do interesse sobre o tema ocorreu em 1938, quando foram determinadas, pela primeira vez, as estruturas cristalinas de polimorfos de uma mesma substância orgânica, o resorcinol (ROBERTSON; UBBELOHDE, 1938; DESIRAJU; VITTAL; RAMANAN, 2011).

Na literatura podemos encontrar diferentes definições para o fenômeno do polimorfismo sendo que todas se baseiam na definição feita por McCrone, em 1965: “Polimorfos são compostos com a mesma composição química, porém com moléculas arranjadas de pelo menos dois diferentes modos no estado cristalino”. Em 2007 Gavezzotti definiu polimorfo como um conjunto de cristais, tendo: 1) composição química idêntica; 2) constituídos de moléculas com a mesma ligação intra-molecular, porém permitindo o arranjo

em diferentes conformações de rotação em torno das ligações simples; 3) e com diferenças tridimensionais, translacionais e de operações de simetria (GAVEZZOTTI, 2007; BROG, et al., 2013). De uma maneira mais simplificada, em Ciências dos Materiais, polimorfismo é definido como a capacidade de uma substância química existir em mais de uma estrutura cristalina (BILTON, et al., 1999; VIPPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001; KARPINSKI, 2006; DESIRAJU, 2008; BRITAIN; GRANT, 2009; PUROHIT; VENUGOPALAN, 2009; LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011; PETRIC, et al., 2015).

É importante ressaltar que o *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), o *Food and Drug Administration* (FDA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) incluem ou incluíam os solvatos/hidratos, sais e co-cristais no conjunto de variações sólidas definidas como polimorfos. Entretanto, recentemente o FDA publicou um guia de classificação regulatória para co-cristais em que busca orientar a indústria farmacêutica quanto à definição de co-cristais e diferentes formas sólidas de um IFA. Portanto, co-cristais são definidos como formas sólidas constituídas pelo IFA e o co-formador. Embora, este novo guia estabeleça uma definição independente para os co-cristais, mantém-se a definição de polimorfismo, incluindo produtos de solvatação ou hidratação (também denominados como pseudopolimorfos) e amorfos (FDA, 2018a).

Com o intuito de tentar padronizar a nomenclatura das diferentes formas sólidas, incluindo as que contém uma molécula de IFA, Grothe e colaboradores, dividem as formas sólidas em dois grupos iniciais, as amorfas e as cristalinas (GROTHER, et al., 2016). As formas cristalinas, por sua vez, foram subdivididas como: monocomponentes (cristal formado por uma única substância) e multicomponentes (cristal contendo duas ou mais substâncias). As formas multicomponentes foram sequencialmente subdivididas em:

- a) solvatos/hidratos verdadeiros - são cristais constituídos pelo IFA e uma ou mais moléculas de água (hidrato) e/ou solvente orgânico (solvato), sendo definido como solvente apenas os compostos que sejam líquidos quando puros à temperatura ambiente (25 °C);
- b) sais verdadeiros – cristais formados apenas por íons, sendo pelo menos um deles o do IFA ionizado (cátion ou ânion);
- c) sais solvatados/hidratados – cristais formados por íons, incluindo o IFA ionizado e uma ou mais moléculas de solvente/água;

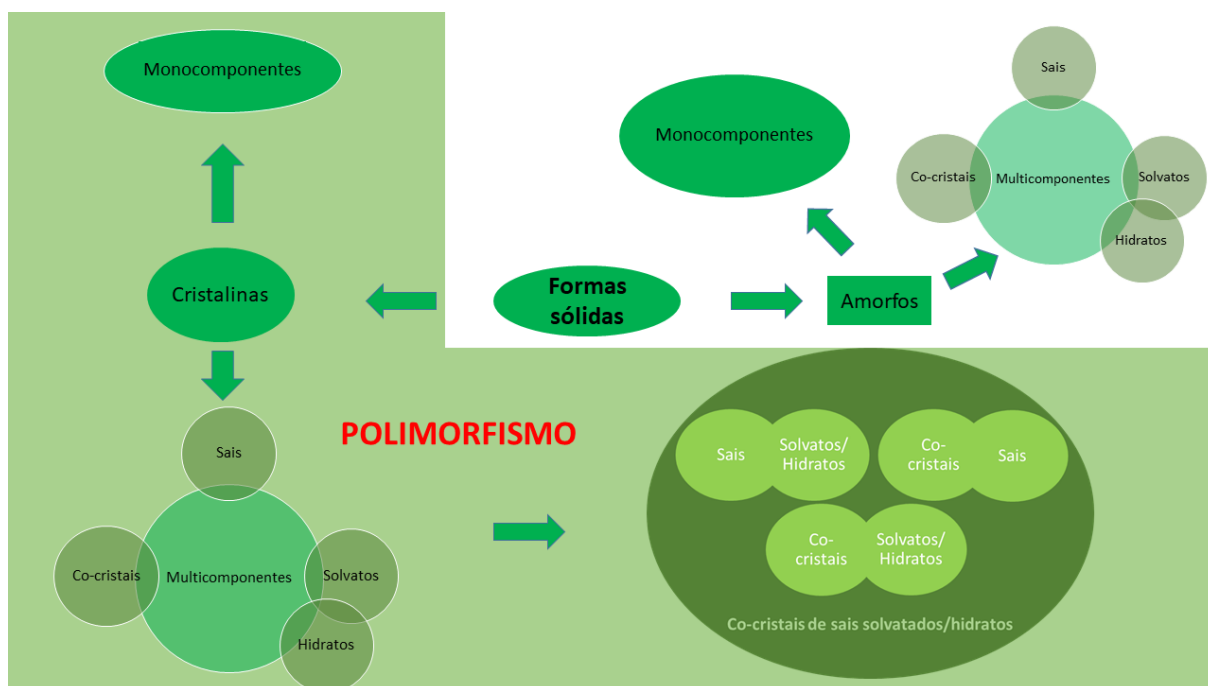
- d) co-cristais verdadeiros – cristais formados por, pelo menos, duas substâncias não-ionizadas que sejam sólidas quando puros à 25 °C, sendo, pelo menos, uma delas a molécula do IFA;
- e) co-cristais de sais – cristais formados por, pelo menos, um par de substâncias não ionizadas que sejam sólidos quando puros à temperatura ambiente e dois ou mais íons, sendo, pelo menos, um dos componentes a molécula do IFA, ionizada ou não-ionizada;
- f) co-cristais solvatados/hidratados – cristais formados por, pelo menos, um par de substâncias não ionizadas que sejam sólidos quando puros à temperatura ambiente sendo, pelo menos, uma delas a molécula de IFA e uma ou mais moléculas de solvente/água;
- g) co-cristais de sais solvatados/hidratados – cristais formados por, pelo menos, um par de substâncias não ionizadas que sejam sólidos quando puros à temperatura ambiente, por dois ou mais íons, e uma ou mais moléculas de solvente/água, sendo, pelo menos, um dos componentes a molécula do IFA, ionizada ou não-ionizada.

A Figura 1 mostra uma representação esquemática das definições fornecidas acima. É importante salientar que todas as variações descritas acima, mono e multicomponente, podem apresentar o fenômeno do polimorfismo (GROTHER, et al., 2016). Contudo, para dois ou mais sólidos serem considerados polimorfos, não pode haver variação de sua composição química. Ou seja, dois monoidratos de um IFA, com estruturas diferentes, são considerados polimorfos enquanto um hemi, sesqui, di, triidrato seriam IFA com diferentes teores de hidratação, mas não polimorfos.

### ***1.1.1 Formas multicomponentes salinas e hidratadas de IFA***

Os IFA administrados na forma sólida devem ser estáveis e ao mesmo tempo ter solubilidade que garanta sua biodisponibilidade, assegurando assim a eficácia do tratamento medicamentoso. Uma das estratégias que oferece, na maioria das vezes, bons resultados tanto de estabilidade e principalmente de solubilidade, é a busca pela formação de sais de IFA (SAAL; BECKER, 2013; ELDER; HOLM; de DIEGO, 2013; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

Figura 1 - Representação esquemática da classificação de formas sólidas envolvendo compostos orgânicos incluindo moléculas de IFA.



Fonte: Do autor.

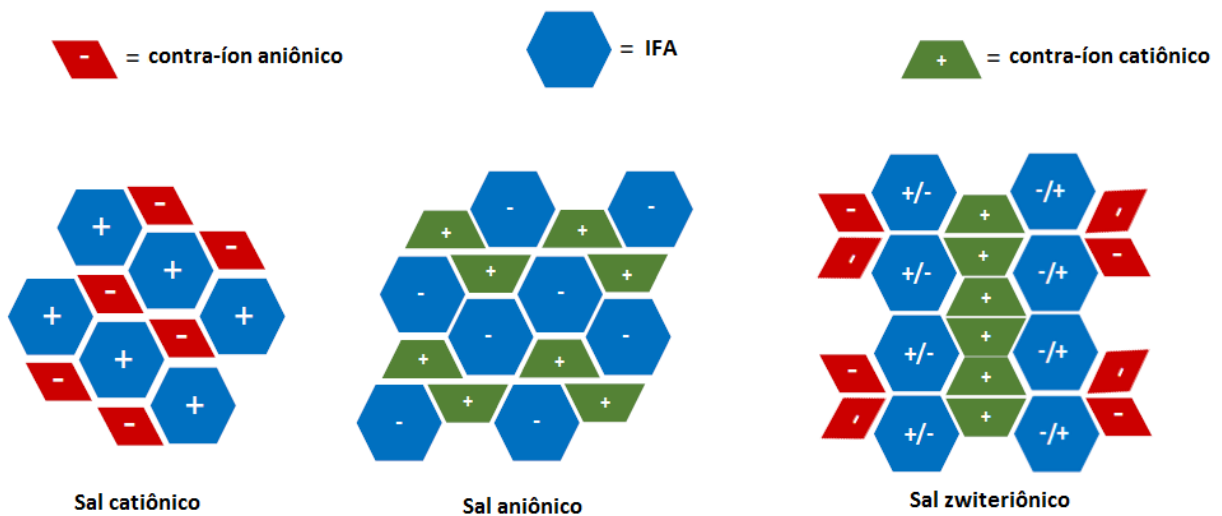
Formas sólidas salinas envolvem pelo menos duas entidades químicas, de um lado o IFA, o qual deve ser uma base ou um ácido ionizável (catiônico, aniônico ou zwitteriônico) e do outro o contra-íon (Figura 2). Para tanto, é necessário fazer um estudo preliminar da molécula do IFA para que seja escolhido um contra-íon adequado (SAAL; BECKER, 2013; ELDER; HOLM; de DIEGO, 2013; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017). Normalmente utiliza-se a regra do delta pka, o qual é calculado a partir do valor de pka da base/ácido livre (IFA) menos o pka do ácido/base (contra-íon). Valores de delta pka maior que 3 favorece a formação de um sal enquanto valores entre 0-3 favorece a formação de co-cristais (AAKERROY; FASULO; DESPER, 2007; MOHAMED; TOCHER; PRICE, 2011; LUEDEKER; BRUNKLAUS, 2015; LUEDEKER, et al., 2016; GOLOB, et al., 2016; DA SILVA, et al., 2016; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

Além da regra do delta pka, a escolha do contra-íon deve também levar em consideração critérios de segurança e toxicidade de sua ingestão (SAAL; BECKER, 2013). Dados referentes às doses máximas diárias de ingestão oral de contra-íons devem ser

consideradas (SAAL; BECKER, 2013). Os contra-íons podem ser divididos de acordo com sua toxicidade em três classes (PFANNKUCH; RETTIG; STAHL, 2011):

- primeira classe - contra-íons que podem ser utilizados sem muita restrição, pois os mesmos podem ser encontrados biologicamente, casos do cloreto e do sódio;
- segunda classe - contra-íons que não são encontrados biologicamente, embora tenham sido comumente utilizados e apresentem baixa toxicidade e elevada tolerabilidade a exemplo do mesilato e outros ácidos sulfônicos;
- terceira classe - contra-íons utilizados em casos especiais para se obter pareamento iônico ou algum tipo de efeito farmacológico especial, como no caso de se utilizar um contra-íon para minimizar o efeito adverso de um IFA, a exemplo do diminidrinato que é utilizado junto à 8-cloroteofilina para diminuir seu efeito sedativo (STEINHILBER; SCHUBERT-ZSILAVECZ; ROTH, 2005; SAAL; BECKER, 2013).

Figura 2 - Representação esquemática dos sais de IFA.



Fonte: Do autor, adaptada da referência (VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

Os formadores de sais da primeira classe, os quais se esperam uma toxicidade menor e tolerabilidade maior, são os preferidos, sendo o maior representante da classe e o de maior número de IFA comercializados, o íon cloreto. A segunda classe também apresenta um bom número de IFA comercializados, apesar de requerer maior atenção. O mesilato, por exemplo, apesar de ser um contra-íon de IFA bastante utilizado, tem sido questionado por poder levar a formação de ésteres metanossulfônicos-alquílicos que são genotóxicos (ELDER; HOLM; de

DIEGO, 2013; SAAL; BECKER, 2013; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

A busca por sais de IFA aptos a serem comercializados tem sido motivada pelo grande número de moléculas de alta potência, mas de baixa solubilidade, obtidas durante o desenvolvimento de novos medicamentos. Atualmente, cerca de 50% dos IFA no mercado de medicamentos são comercializados na forma de sais. Contudo, os sais de IFA também podem ter polimorfos ou facilitar a formação de hidratos (sais hidratados) que se ocorrerem, de forma inadvertida, pode gerar problemas para a indústria farmacêutica (ELDER; HOLM; de DIEGO, 2013; SAAL; BECKER, 2013; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

No desenvolvimento de novos medicamentos, as formas sólidas hidratadas, sejam elas da base/ácido livre ou de sais, também têm sido frequentemente utilizadas como IFA, levando-se em conta os critérios de estabilidade termodinâmica. É estimado que, aproximadamente, um terço das moléculas usadas como IFA tenham relatos de hidratos (TIAN, et al., 2010) estatística que pode ser estendida para os compostos orgânicos (CRUZ-CABEZA; REUTZEL-EDENSB; BERNSTEIN, 2015). Os hidratos também oferecem desafios para a indústria farmacêutica e para pesquisadores. Como exemplo, pode-se citar a solubilidade aquosa, propriedade de extrema importância que pode afetar a velocidade de dissolução, a biodisponibilidade e como consequência a eficácia e segurança do medicamento (SHIMANOVICH; COOKE; PETERSON, 2012).

A incorporação de água/solvente na estrutura cristalina é frequente, porque a sua pequena dimensão molecular é capaz de preencher *voids* (volumes vazios deixados pelo o empacotamento do soluto) melhorando assim a eficiência de empacotamento cristalino. Além disso, os sítios de ligação de hidrogênio de uma molécula são frequentemente mais bem satisfeitos por interações com a água do que com a própria molécula em questão, o que contribui para a estabilização do cristal (BRAUN; GRIESSER, 2016). Em determinadas situações o hidrato é escolhido como IFA devido à dificuldade de obtenção ou a instabilidade (facilidade de se hidratar) do anidrato. Em outras situações requer-se cuidados para que um IFA anidro não se transforme em hidratos. Uma avaliação cuidadosa da estequiometria, relações de estabilidade e vias de transformação de hidratos farmacêuticos devem embasar a triagem e o processo de seleção de uma forma sólida (BRAUN et al., 2015). Dependendo das condições e o processo de como o medicamento é produzido (liofilização, tipo de granulação, cristalização, revestimento empregado e secagem), o sólido farmacêutico pode incorporar ou

perder água estrutural (presente na rede cristalina). Pode também haver, durante a estocagem e tempo de vida do insumo ou do medicamento, a inadvertida hidratação o IFA anidro por meio da interação com água de umidade relativa do ar e/ou de constituintes hidratados da formulação (excipientes) (TIAN et al., 2010; FARIAS; SOARES; CARNEIRO, 2016).

Embora, considerados bastante ocorrentes (KHANKARI; GRANT, 1995; LESTER et al., 2006), os mecanismos de transições de fases cristalinas envolvendo hidratação completa ou parcial (o que leva a um produto constituído por mistura de fases) de IFA são pouco compreendidos podendo resultar em produtos farmacêuticos com problemas de instabilidade e/ou solubilidade, uma vez que, esses parâmetros dependem da fase cristalina presente (TIAN, et al., 2010; SHIMANOVICH; COOKE; PETERSON, 2012).

O processo de desidratação, fenômeno inverso à hidratação, também pode ocorrer quando a atividade de água no ambiente externo ao hidrato é menor do que a atividade na sua estrutura. Elevadas temperaturas, baixos índices de umidade relativa e mudanças de pressão podem gerar a desidratação de hidratos. A perda de água pode ocorrer nas etapas de estocagem, secagem, moagem, mistura e compressão de um determinado IFA ou durante a estocagem da formulação final (SHIMANOVICH, COOKE; PETERSON, 2012; ARORA, THAKRAL; SURYANARAYANAN, 2013).

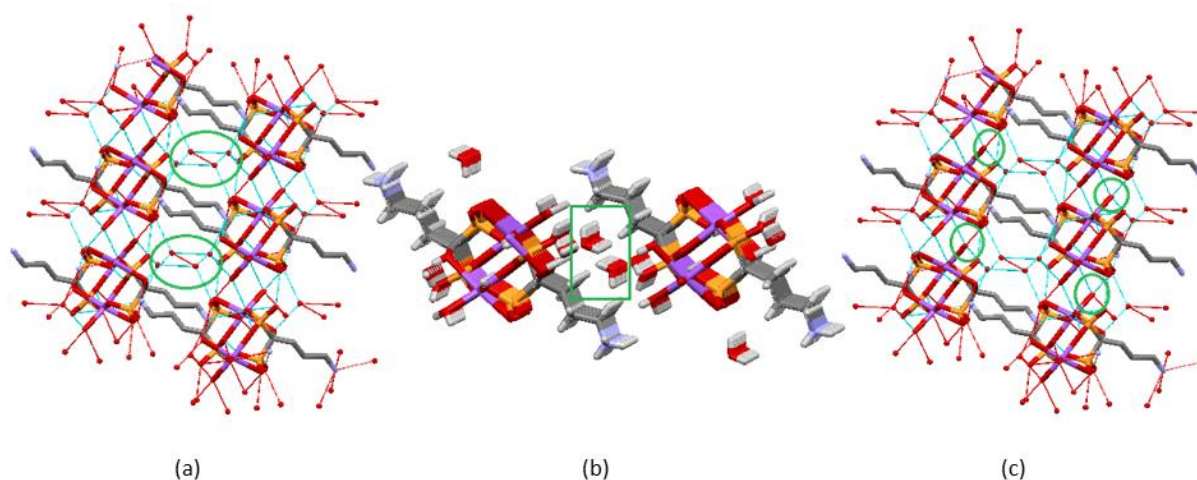
O processo de desidratação de um hidrato cristalino pode ocorrer mantendo-se ou alterando-se, apenas parcialmente, a sua estrutura inicial. Ou seja, a simetria do empacotamento das moléculas de IFA é mantida. Por outro lado, a desidratação pode ser acompanhada pelo total colapso da estrutura original, levando a um novo tipo de empacotamento das moléculas de IFA ou, até mesmo à amorfização. Além disso, o processo de desidratação pode ser parcial levando à formação de hidratos cristalinos menos solvatados sem ou com colapso da estrutura (GIRON et al., 2002). A formação de co-cristais mediados pela água liberada a partir de hidratos também é relatada (ARORA, THAKRAL; SURYANARAYANAN, 2013).

O colapso ou não da simetria da rede do hidrato com desidratação, tem correlação com o espaço (volume) relativo na cela unitária do cristal não ocupado pelo IFA. Esses espaços são chamados de *voids* e são neles que a água estará presente na rede cristalina de um hidrato. Obviamente, o *void* deve ser grande o suficiente para comportar o volume da (s) molécula (s) nele presente. Assim, por outro ponto de vista, se o tamanho do *void* a ser deixado pela (s) molécula (s) de água for demasiadamente grande, de forma a impossibilitar a manutenção da rede hospedeira (simetria do empacotamento do IFA no cristal) intacta (estável), ela colapsará

adotando outro tipo de empacotamento que diminua o tamanho dos *voids* (GONZAGA, et al., 2016; SANTOS et al., 2016).

O impacto da saída da água na rede cristalina do hidrato também depende de qual função ela está exercendo na sua estabilização. Quando a molécula de água ocupar *voids* não interconectados, de maneira que ela fique totalmente “encapsulada” (presentes em bolsões de rede) pelo empacotamento das moléculas do IFA, a sua retirada normalmente gera o colapso da estrutura cristalina. Já em estruturas de hidratos, em que os *voids* são contínuos do tipo canais ou camadas, o que possibilita até que as moléculas de água se liguem umas às outras através de ligações de hidrogênio, é possível que o processo de desidratação não leve ao colapso da estrutura da matriz formada pelas moléculas de IFA e o processo de reidratação (reversibilidade) pode ser facilitado. Normalmente os hidratos de canais e camadas possuem temperatura de desidratação inferior aos hidratos de encapsulamento (GONZAGA, et al., 2016; SANTOS et al., 2016). Além disso, os hidratos de canais e camadas podem ter a água substituída por outros solventes. Outro tipo de hidrato corresponde àqueles que possuem água de coordenação, ligada a íons metálicos exercendo o papel de contra-íon de ânions orgânicos (produto da desprotonação de ácidos fracos). A desidratação desse tipo de hidrato requer temperaturas superiores aos demais tipos e geralmente provoca alterações de fase. Cabe ressaltar que podem ocorrer hidratos com mais de um tipo de água estrutural (TIAN, et al., 2010) (Figura 3).

Figura 3 - Representação dos tipos de água que podem compor uma molécula orgânica, em (a) água ligada a molécula do IFA (ligações de H), em (b) água de canais e em (c) água como ligante completando a coordenação em torno de um íon metálico



Fonte: Do autor, utilizando a estrutura do alendronato de sódio triidratado, CIF: TEHWOS (VEGA; BAGGIO; GARLAND, 1996).

A ocorrência de diferentes formas sólidas resultantes da hidratação/desidratação de um IFA gera efeitos semelhantes ao polimorfismo, uma vez que as fases produzidas podem apresentar propriedades distintas. Podem ser observadas mudanças nas interações intermoleculares, na energia interna, entalpia, entropia, perfil termodinâmico, solubilidade, biodisponibilidade e comportamento mecânico. Sendo assim, torna-se relevante a realização de estudos hidratação/desidratação de IFA de modo a garantir a sua segurança e eficácia (KHANKARI; GRANT, 1995).

A estabilidade dos sistemas hidratos/anidros é dependente da atividade termodinâmica e da temperatura. Desde que, a atividade de água seja superior à atividade crítica para que ocorra hidratação, a forma hidratada será mais estável que o anidro, em virtude da melhora de estabilidade estrutural conferida pelas moléculas de água incorporadas (TIAN, et al., 2010). Por outro lado, se a água for removida formando-se um desidrato “isomórfico” (estrutura cristalina igual ao hidrato exceto pela ausência da água), “espaços vazios” (*voids*) são gerados na estrutura cristalina reduzindo sua estabilidade química e física. Os desidratos ou anidros isomórficos são altamente higroscópicos e podem captar inclusive outros solventes ou até mesmo oxigênio molecular para minimizarem as lacunas no cristal. A eficiência de empacotamento reduzida na rede dessolvatada acarreta diminuição da energia de rede, ou seja, a forma desidratada é menos estável em relação à estrutura solvatada (BRAUN; GRIESSER, 2016).

Sendo assim, a incorporação da água pelo sólido e como esse evento ocorre, podem acarretar propriedades físicas e químicas muito diferentes para o composto formado. Ou seja, a molécula de água em contato com a sua forma anidra pode alterar sua solubilidade, taxa de dissolução e estabilidade. No caso de IFA com baixa solubilidade, em que essas alterações são muito significativas, pode-se ter consequências positivas ou não na sua biodisponibilidade. A velocidade de dissolução de um hidrato pode ser maior ou menor do que a da forma anidra. Contudo, geralmente a estabilidade termodinâmica dos hidratos são maiores e, conseqüentemente, eles são menos solúveis e têm perfis de dissolução mais lentos (BRAUN et al., 2015). Além disso, o hidrato pode se dissolver mais lentamente porque as superfícies de seus cristais em contato com o solvente têm menos sítios (grupos hidrofílicos do IFA) disponíveis para a interação soluto-solvente, o que diminui a solubilidade (CENSI; DI MARTINO, 2015). Em outras palavras, as moléculas de água da rede cristalina (onde há

interação soluto-solvente na rede) exercem uma espécie de blindagem no processo de dissolução que requer interação soluto-solvente na solução (CENSI; DI MARTINO, 2015).

### ***1.1.2 O impacto das diferentes formas sólidas nas propriedades físicas e químicas de um IFA***

Como já mencionado, diferentes formas sólidas de um IFA, incluindo o polimorfismo, possuem diferentes propriedades físicas e químicas, podendo acarretar problemas de formulação, produção, transporte, armazenamento e, principalmente, ação farmacológica de medicamentos (LLINÀS; GOODMAN, 2008; LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011; MAHMOOD, et al., 2015; TAN; LOOTS; FRISCIC, 2015). O impacto na ação farmacológica advém da possível mudança da biodisponibilidade do IFA, causado pelas diferentes solubilidades de suas variações cristalinas. O problema pode ser amplificado, a ponto de chamar a atenção de órgãos reguladores e indústrias farmacêuticas, se o IFA tiver o processo de dissolução como fator limitante da absorção o que pode tornar o medicamento ineficaz e/ou inseguro (FDA, 2007; LLINÀS; GOODMAN, 2008; CENSI; DI MARTINO, 2015; QIU et al., 2015).

Os procedimentos de desenvolvimento de um novo medicamento e das boas práticas de sua produção são estabelecidos por órgãos reguladores, o que atualmente, inclui a necessidade de preconizar a forma sólida correta da molécula detentora da ação biológica desejada (BYRN, et al., 1995; SHINGAL; CURATOLO, 2004; VANGALA; CHOW; TAN, 2013). No Brasil a AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (acrônimo, ANVISA) é o órgão regulador e fiscalizador. O órgão regulador norte americano é o FDA e como órgão normalizador tem-se o ICH. De acordo com o guia Q6A (sigla em inglês para *Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances*) do ICH (ICH Q6A), a forma sólida a ser escolhida no desenvolvimento de um novo medicamento deve ser preferencialmente a mais estável, embora nem sempre seja a forma biofarmacêutica ideal (BYRN, S. et al., 1995; SHINGAL; CURATOLO, 2004; FDA, 2007).

Por outro lado, apesar de todo o conhecimento científico acumulado a respeito dos efeitos negativos da presença inadvertida de uma forma cristalina não preconizada em um medicamento, os ensaios de caracterização estrutural dos sólidos de IFA não fazem parte da maioria das monografias descritas em compêndios oficiais (USP 42, 2019). Recentemente, a

Organização Mundial de Saúde (OMS) iniciou um estudo com o objetivo de buscar mais informações sobre IFA que apresentem o fenômeno do polimorfismo, visando estimular a inclusão dessas informações em compêndios oficiais (WHO, 2018; BRITISH PHARMACOPEIA, 2019). O resultado em curto prazo, já indica uma evolução satisfatória, haja vista, o aumento considerável do número de monografias da nova versão da Farmacopeia Britânica que traz informações sobre polimorfismo, embora ainda não há a indicação da melhor forma a ser utilizada, exceto raras exceções, como por exemplo, a Carbamazepina (BRITISH PHARMACOPEIA, 2019).

Mesmo com esta evolução e os grandes investimentos feitos pela indústria farmacêutica, a questão das formas sólidas de IFA ainda é um fator preocupante, uma vez que não é possível prever todos os polimorfos e/ou formas sólidas estáveis/metaestáveis de um IFA (LLINÀS; GOODMAN, 2008). Além disso, durante a produção em larga escala do IFA e dos medicamentos nas indústrias farmoquímicas e farmacêuticas, podem surgir, inadvertidamente, diferentes formas sólidas do IFA. Isso pode ocorrer porque a síntese do IFA e, posteriormente, a produção do medicamento que o contém, envolvem vários processos com grandes variações reacionais, físicas e químicas, que possibilitam transições de fases, hidratação e desidratação. Quando se trata do produto acabado (medicamento), pode também ocorrer transição de fase durante a estocagem, devido à interação do fármaco com os excipientes e/ou ambiente (IBRAHIM, et al., 1977; TAKENAKA, et al., 1980; YORK, 1983; SANTOS, et al., 2016; CARVALHO, et al., 2016).

O caso mais impactante, sem dúvida, ocorreu em 1998 com o medicamento Norvir® que continha o IFA ritonavir, um antirretroviral de primeira geração utilizado para o tratamento da AIDS. Durante o processo de manufatura do medicamento surgiu um novo polimorfo, a forma II, mais estável e, conseqüentemente, menos solúvel em relação a que era utilizada na produção, a forma I. Este desvio de qualidade foi detectado após a falha de alguns lotes do medicamento no ensaio de dissolução. Isso fez com que a Abbott, única empresa responsável pela sua produção àquela época, retirasse do mercado os lotes que apresentaram problemas, bem como interrompesse o processo produtivo para investigar a causa da transição de fase. Tais medidas acarretaram grandes prejuízos financeiros à empresa e angústia dos pacientes. Por outro lado, essa ocorrência serviu para despertar a preocupação dos órgãos reguladores e o interesse por parte da Academia e da Indústria a respeito do polimorfismo (CHEMBURKAR, et al., 2000; BAUER, et al., 2001).

Outro caso recorrentemente citado em revisões sobre o tema é o polimorfismo do mebendazol, um IFA anti-helmíntico que apresenta diferentes solubilidades para polimorfos conhecidos (A, B e C). Os polimorfos A e B são respectivamente a forma mais estável e instável e, conseqüentemente, a menos e a mais solúvel. O polimorfo C é a forma preferencialmente utilizada em formulações farmacêuticas por ter uma solubilidade intermediária entre A e B (COSTA, et al., 1991; FROEHLICH; GASPAROTTO, 2005; CALVO; KAUFMAN; MAGGIO, 2016). Contudo, é comum encontrar misturas de polimorfos do mebendazol, tanto em insumos como em medicamentos. Em 2005, Froehlich & Gasparotto relataram a presença de diferentes polimorfos em matérias-primas e medicamentos (genérico e referência) sendo que, o de referência anteriormente comercializado continha o polimorfo C. Tempos depois, com a substituição do medicamento referência, diferentes polimorfos foram encontrados, dependendo dos lotes avaliados (COSTA, et al., 1991; FROEHLICH; GASPAROTTO, 2005; VILLIERS, et al., 2005; ARAUJO, et al., 2012; CALVO; KAUFMAN; MAGGIO, 2016).

Reconhecendo a importância dessa temática, a ANVISA publicou recentemente uma resolução que obriga a indústria farmacêutica a tomar conhecimento, caracterizar e acompanhar possíveis eventos de transição de fase das formas sólidas empregadas como IFA durante a manufatura dos medicamentos. Trata-se da RDC N° 73 de 7 de abril de 2016, que dispõe sobre mudanças pós-registro, cancelamento de registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos e dá outras providências (ANVISA, 2018a). Nesse contexto, as diversas técnicas de caracterização do estado sólido são ferramentas primordiais para que se tenham resultados satisfatórios e que garantam a qualidade e eficácia dos medicamentos produzidos.

As Farmacopeias têm, em seus capítulos gerais, informações sobre as principais técnicas de caracterização do estado sólido; dentre elas pode-se citar: a difratometria de raios X por monocristal e por policristais (DRXM e DRXP, respectivamente); espectroscopia Raman; espectroscopia na região do infravermelho (IV); análise térmica diferencial (DTA); termogravimetria (TG); e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Dentre as técnicas de difração, a DRXM é a principal técnica de elucidação de estruturas de formas sólidas inéditas, enquanto a DRXP é mais utilizada para a diferenciação de formas sólidas em amostras policristalinas (OPARIN, et al., 2015; BRITISH PHARMACOPEIA, 2019; USP 42, 2019).

Diferentes formas sólidas também podem ser diferenciadas por meio de testes comparativos de solubilidade e dissolução, uma vez que, essas propriedades dependem da

energia da rede cristalina do IFA (YU, et al., 2003; VIANA, et al., 2018). A dissolução intrínseca também pode ser utilizada para caracterizar fármacos no estado sólido, de maneira a evitar problemas com a biodisponibilidade, além de ajudar a entender a relação entre velocidade de dissolução e a forma cristalina (AMIDON; HIGUCHI; HO, 1982; AMIDON, et al., 1995; YU, et al., 2004).

## *1.2 Técnicas de caracterização do estado sólido*

As técnicas de DRXP, IV, TG, DTA e/ou DSC são as ferramentas analíticas usualmente empregadas, de forma isolada ou em conjunto, para caracterizar a constituição cristalina (fase (s) presente (s) em um bulk) ou transição de fase envolvendo sólidos farmacêuticos (QIU et al., 2015). Embora menos difundidas para esse objetivo, a espectroscopia Raman, a Ressonância magnética nuclear no estado sólido (RMN-S) e a Microscopia eletrônica de varredura (MEV) também são utilizadas (MAGUIRE; BRUNSKILL, 2015).

### *1.2.1 Difração de raios X*

A difração de raios X é capaz de fornecer informações precisas a respeito da estrutura tridimensional de uma molécula, pois a faixa de comprimento de onda (angstroms) desta radiação está na mesma dimensão dos comprimentos das ligações químicas. É uma técnica capaz de elucidar a estrutura e diferenciar as formas sólidas (polimorfos, solvatos/hidratos, amorfos, sais, co-cristais, etc) existentes para um dado IFA (ZACCARO, et al., 2001; HASEGAWA, 2012).

As amostras a serem analisadas pela difração de raios X podem ser policristalinas (DRXP) ou monocristalinas (DRXM). Se a busca é pela determinação estrutural, a DRXM é a preferida. A DRXP, embora também possa ser utilizada para resolver estruturas cristalinas na ausência de um monocristal ou de um equipamento de DRXM, é uma ferramenta largamente utilizada para análises qualitativas e quantitativas de fases cristalinas e até mesmo amorfas, presente em uma amostra sólida (ZACCARO, et al., 2001).

A técnica se baseia no fenômeno da difração, em que o feixe de raios X de comprimento de onda único incide sobre uma amostra sólida. Se a amostra for cristalina, o material difrata obedecendo a Lei de Bragg ( $n\lambda=2d\sin\theta$ , em que,  $\lambda$  é o comprimento da onda

de raios X,  $d$  é a distância dos planos espalhadores do cristal e  $\theta$  é o ângulo de difração) e a radiação espalhada é coletada em ângulos característicos que dependem da simetria do empacotamento cristalino (CULLITY, 1978). A interpretação dos dados de difração permite se chegar:

- ao tipo (triclínico, monoclínico, ortorrômbico, tetragonal, trigonal, hexagonal ou cúbico) e às dimensões (vetores e ângulos  $a$ ,  $b$  e  $c$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) da cela unitária;
- ao tipo de rede de Bravais, que é o primeiro conjunto de simetria;
- às simetrias que relacionam as moléculas contidas na cela unitária (qual é o grupo de espaço dentre os 230 possíveis);
- e, finalmente, a posição relativa de cada átomo da molécula/composto (coordenadas fracionárias  $x$ ,  $y$ ,  $z$ ) tomando como referência a cela unitária.

Se todas essas etapas forem exitosas, a estrutura (geometrias intra e intermolecular = empacotamento) é considerada determinada. Vale ressaltar, que todos estes dados que são encontrados através das análises de difração de raios X são características específicas e únicas de cada fase cristalina (impressão digital), da mesma forma que o padrão de difração (conjunto de picos em diferentes ângulos com diferentes intensidades) por ele gerado (MYERSON, 1985). Nesse sentido, um padrão de DRXP pode ser utilizado para identificar uma fase e/ou as diferentes fases que uma mesma substância possa se cristalizar, os polimorfos.

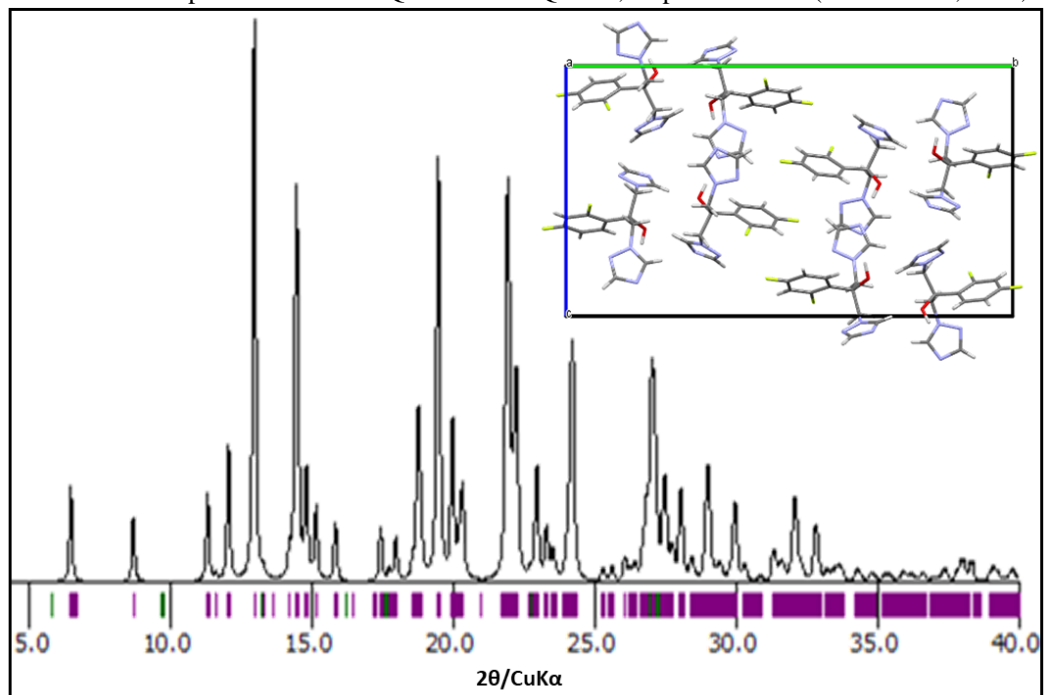
Tomando como exemplo dois polimorfos do fluconazol (4 e 6) com estruturas determinadas por DRXM, cujos parâmetros de rede estão mostrados no Quadro 1, nota-se que a partir dos dados obtidos por DRXM, é possível gerar um padrão de difração de raios X por policristais calculado para cada um dos polimorfos (Figura 4). As diferenças nos parâmetros de rede e no empacotamento destes polimorfos fornecem diferentes padrões de difração e com isso pode-se diferenciá-los, mostrando que a técnica de difração de raios X é uma importante ferramenta na diferenciação de polimorfos de IFA.

Quadro 1 - Parâmetros de rede dos polimorfos 4 e 6 do fluconazol (KARANAN, et al., 2012).

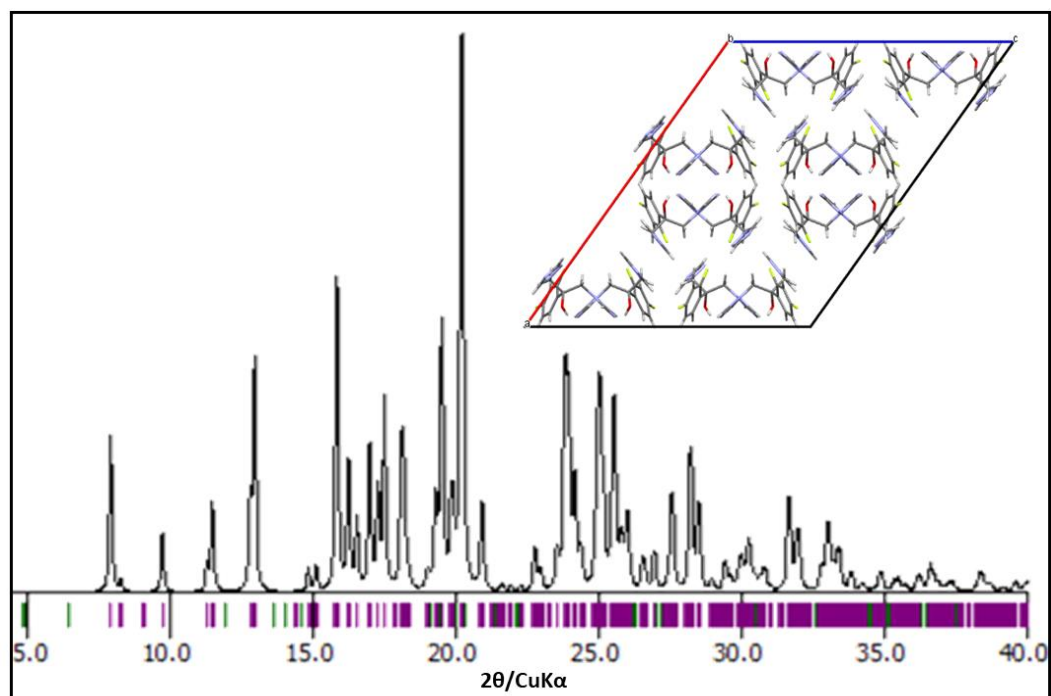
|                 | Polimorfo 4        | Polimorfo 6 |
|-----------------|--------------------|-------------|
| Grupo de espaço | P2 <sub>1</sub> /n | C2/c        |
| a (Å)           | 6,6989(4)          | 27,4726(9)  |
| b (Å)           | 27,387(2)          | 10,9196(4)  |
| c (Å)           | 15,290(1)          | 22,342(1)   |
| $\beta$ (°)     | 90,32(3)           | 125,34(2)   |

Fonte: Do autor.

Figura 4 - Padrões de difração de raios X por policristais calculados para os polimorfos (a) 4 e (b) 6 do fluconazol a partir dos cif: IVUQOF01 e IVUQOF03, respectivamente (KARANAN, et al., 2012).



(a)



(b)

Fonte: Do autor.

### ***1.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)***

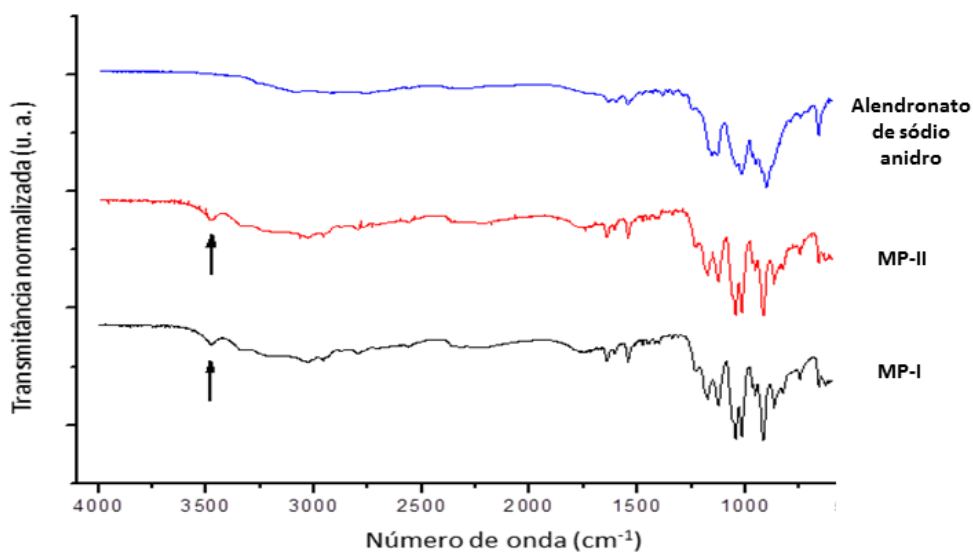
A espectroscopia na região do infravermelho estuda as vibrações moleculares fundamentais e tem seus fundamentos baseados em efeitos de absorção da radiação, que é dependente da variação do momento de dipolo da molécula (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

As moléculas de IFA apresentam diferentes grupos funcionais em sua composição e estes normalmente apresentam frequências de absorção bem características (grupo de frequências), baseadas nos movimentos vibracionais das moléculas (PAJANDER, et al., 2013). Com isso, cada grupo funcional de uma molécula apresentará bandas e intensidades características em regiões específicas do espectro (ZACCARO, et al., 2001; DETOISIEN, 2011). A técnica de IV pode ser efetiva na diferenciação de polimorfos, pois ela pode detectar diferenças de interações intermoleculares fortes, como as ligações de hidrogênio, desde que estas tenham a capacidade de apresentar efeito nas vibrações intramoleculares (AALTONEN et al., 2009). É uma técnica muito eficaz na diferenciação de formas sólidas hidratadas e anidras pelo fato de moléculas hidratadas apresentarem bandas características de água em torno de  $3100\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN, et al., 2014).

Um acessório que pode ser acoplado ao equipamento de IV e que trouxe grandes avanços à técnica para a avaliação de diferentes formas sólidas é a Refletância Total Atenuada (RTA) com transformada de Fourier (FT), tornando-a uma técnica de rotina recomendada pelas farmacopeias para a identificação química de IFA (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011; CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011). É uma técnica não destrutível e com o acessório acoplado ao infravermelho as amostras não necessitam de preparo inicial, incluindo a produção das pastilhas por meio de prensagens. Essa característica é especialmente importante, tornando-a preferida em análises de diferentes formas sólidas em detrimento a técnica convencional, pois a aplicação de pressão pode alterar a fase cristalina presente na amostra original (CHIENG, RADES; AALTONEN, 2011).

Exemplificando a utilização da técnica na diferenciação de hidratos e anidros, tem-se o alendronato de sódio, IFA comercializado na forma triidratada, mas que pode passar por processo de desidratação, gerando seu anidro (Figura 5). Neste exemplo, é notória a presença da banda característica de água (em torno de  $3100\text{ cm}^{-1}$ ) nas matérias-primas do IFA e ausência da mesma na forma anidra (GONZAGA, et al., 2016).

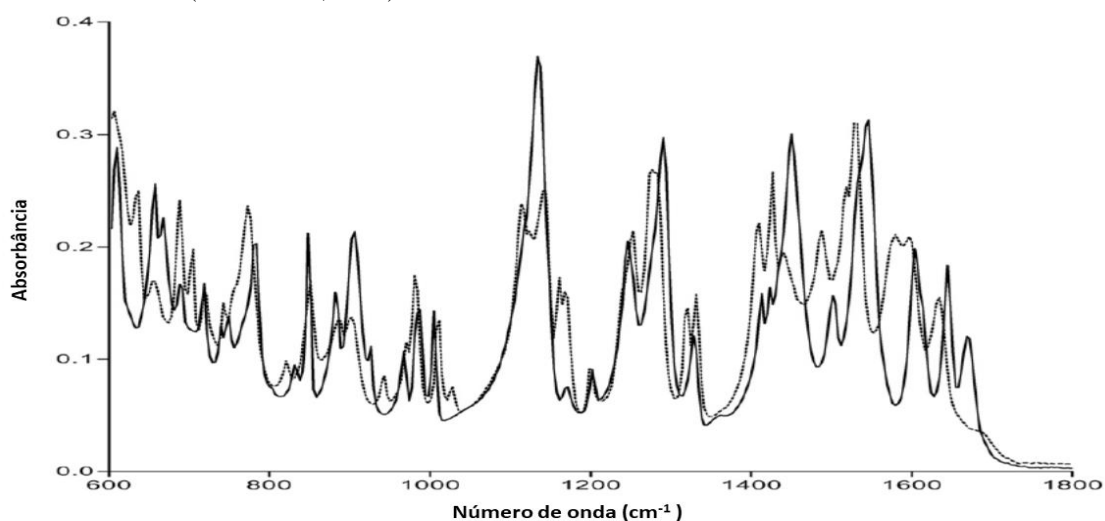
Figura 5 - Espectros de IV das matérias-primas (I e II) do alendronato de sódio comparados ao espectro de IV da forma anidra do IFA.



Fonte: Do autor, adaptada da referência, GONZAGA, et al., 2016.

Na diferenciação de polimorfos, tem-se a famotidina, em que o IV foi empregado na caracterização dos polimorfos A e B do IFA. É possível visualizar na Figura 6 grandes diferenças entre os espectros (formas A e B), principalmente, na região de *fingerprint* (1800 – 600  $\text{cm}^{-1}$ ) da molécula. Diferenças relacionadas à deslocamento de bandas, ausência e/ou presença de bandas, bem como variações de intensidades entre eles. Portanto, nota-se que casos em que o polimorfismo gera diferenças intermoleculares capazes de alterar o momento dipolo da molécula, a técnica de IV é muito efetiva nesta diferenciação. (BRITAIN, 2006).

Figura 6 - Espectros de IV na região de *fingerprint* da forma A (linha sólida) e forma B (linhas tracejadas) da famotidina (BRITAIN, 2006).



Fonte: Do autor, adaptada da referência, BRITAIN, 2006.

### ***1.2.3 Análises térmicas – Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG)***

O conjunto de técnicas em que as propriedades físicas e químicas da amostra são medidas em função do tempo e temperaturas são chamadas de análises térmicas. A variação de temperatura em função do tempo pode ser definida de acordo com as necessidades de análise e podem consistir em aquecer ou resfriar (dinâmico), manter a temperatura constante (isotérmica), ou qualquer sequência destes (DEAN, 1995; ARAÚJO et al., 2003; PITALUGA, 2010). Inclui neste conjunto de técnicas a DSC e a TG, que são técnicas de muita importância nos estudos de caracterização de IFA no estado sólido, determinação de faixa de fusão, e principalmente na investigação de transição de fase cristalina de formas sólidas multicomponentes cristalinas solvatadas/hidratadas (LI; CHOW; TAN, 2011; LÁNG et al., 2013; LIN et al., 2014).

A análise de DSC mede a diferença de energia fornecida à amostra e a um material de referência, em função da temperatura. (KISS, et al., 1994; RODRÍGUEZ-SPONG, et al. 2004; PITALUGA, 2010; THIRUVENGADAM; VELLAISAMY, 2014). A técnica tem como princípio básico as mudanças de fluxo de calor que a amostra pode sofrer durante todo o processo de análise. Eventos como transições de fase cristalina e/ou desidratação, causarão mudanças de fluxo de calor entre amostra e referência, na tentativa de mantê-las na mesma temperatura. A quantidade de calor que flui entre a amostra e a referência dependerá se o evento é endo ou exotérmico. Uma quantidade de calor maior, fluindo para a amostra com o objetivo de aumentar sua temperatura à mesma taxa da referência é um exemplo do que ocorre quando uma amostra sólida se funde. Isto é devido à absorção de calor pela amostra à medida que sofre a transição de fase endotérmica do sólido para o líquido. Eventos exotérmicos, tais como a cristalização, necessita de menos calor para que a temperatura da amostra seja aumentada. Os calorímetros exploratórios diferenciais são capazes de medir a quantidade de calor absorvido ou liberado durante as transições de fase cristalina, analisando a diferença no fluxo de calor entre a amostra e a referência. Além disso, o DSC também pode ser usado para fornecer dados a respeito das temperaturas de fusão de formas sólidas de IFA, como ferramenta importante na identificação de formas estáveis e metaestáveis (CLAS; DALTON; HANCOCK, 1999), e por fim pode ser utilizada para a observação de eventos mais sutis, como transições vítreas (HILKIFER; BLATTER; RAUMER, 2006).

A avaliação dos eventos de perda de massa de um IFA pode ser feita através da análise de TG, em que a amostra passa por um processo de aquecimento contínuo, programado e controlado, gerando dados referentes às perdas de massa da amostra em função da temperatura (ARAÚJO et al., 2003; THIRUVENGADAM; VELLAISAMY, 2014). Quanto a seu uso para identificar transições de fase, a TG se restringe àquelas que envolvam perda de massa, como os processos de dessolvatação/desidratação (BRITTAIN, 1999). Juntamente com o DSC ela se torna parte importante na determinação quantitativa de compostos voláteis de um sólido, permitindo a distinção entre solvatos/hidratos e anidros de um dado IFA (KISS, et al., 1994).

#### ***1.2.4 Estudos de solubilidade em equilíbrio e dissolução intrínseca***

Diferentes formas cristalinas de uma molécula, incluindo polimorfos, podem ter diferentes solubilidades de equilíbrio (termodinâmico) e velocidade de dissolução (cinético) e, portanto, estas técnicas podem, também, serem usadas para caracterizar amostras sólidas de IFA. Além disso, são técnicas classicamente usadas para prever a bioequivalência de formulações sólidas, uma vez que, têm correlação com a biodisponibilidade (YU, et al., 2003).

Os estudos de solubilidade em equilíbrio geralmente são realizados pelo método do equilíbrio, empregando a técnica do *shake-flask*, ou em português, agitação do frasco, em uma mesa agitadora orbital com controle de temperatura. As amostras a serem avaliadas são dissolvidas em quantidades adequadas em meios aquosos na faixa de pH fisiológico (1 a 6,8), até que seja observada saturação. Posteriormente, as soluções são agitadas em temperatura controlada (25 °C ou 37 °C) por 24 horas ou até que seja alcançado o equilíbrio termodinâmico (ANVISA, 2018). Por fim, o sobrenadante é quantificado através de métodos descritos em farmacopeias ou validados em laboratório. As principais técnicas de quantificação descritas em farmacopeias e que são empregadas são a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e/ou espectrofotometria na região do ultravioleta e Visível (UV-Vis) (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2019; BRITISH, 2019; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP, 2019). O pó restante após o ensaio deve ser avaliado por DRXP para verificar se houve transição de fase cristalina durante o ensaio.

No ensaio de dissolução intrínseca discriminatória o IFA é compactado de forma que a área exposta ao meio de dissolução permaneça constante. A partir dos resultados é possível

calcular a taxa de dissolução intrínseca (TDI), que é definida como a dissolução do IFA puro quando condições tais como área de superfície, temperatura, agitação ou velocidade de rotação, pH e força iônica do meio de dissolução são mantidas constantes (HULSE; GRAY; FORBES, 2012).

Assim, a dissolução intrínseca tem sido utilizada para caracterizar fármacos no estado sólido, além de permitir a prevenção de problemas com a biodisponibilidade (AMIDON, 1982; AMIDON, et al., 1995; ROSA, 2005). Dentre suas principais utilizações, tem-se determinado parâmetros termodinâmicos associados à transição de fases cristalinas, investigado o fenômeno de transferência de massa durante o processo de dissolução, estudado o efeito de tensoativos e da alteração do pH para solubilização de IFA pouco solúveis em água e tentado entender a relação entre velocidade de dissolução e a forma cristalina de uma substância (YU, et al., 2004).

O ensaio de dissolução intrínseca é um estudo de caracterização e por isso não consta nas monografias farmacopeicas de formas farmacêuticas. Enquanto a solubilidade é um parâmetro estático, que se refere ao equilíbrio termodinâmico, a velocidade de dissolução é um conceito dinâmico, que representa a quantidade de fármaco dissolvida por unidade de tempo (HULSE, GRAY, FORBES, 2012). Neste ponto é importante diferenciarmos os estudos de dissolução intrínseca, dissolução e perfil de dissolução. O ensaio de dissolução, descrito geralmente nas monografias dos medicamentos, está relacionado à liberação do IFA da formulação (IFA + excipientes) em um determinado tempo, diferindo do ensaio de dissolução intrínseca, que estuda a velocidade de dissolução do IFA puro. Já os perfis de dissolução, estão relacionados à determinação da liberação do IFA da formulação em função do tempo, de maneira a traçar uma curva de dissolução (% de IFA liberado em cada tempo). O mesmo conceito se aplica para os ensaios de perfis de dissolução intrínseca, em que se determina o perfil de dissolução do IFA puro. Os ensaios de perfis de dissolução são mais utilizados como comparativos, ou entre uma forma sólida e outra (perfil de dissolução intrínseca) ou entre uma formulação e outra (perfil de dissolução). A similaridade entre os perfis é dada pelo cálculo de eficiência de dissolução e fator de semelhança,  $F_2$ , que pode ser calculado pela Equação 1 (em que,  $R_t$  é a porcentagem do fármaco referência dissolvido em cada ponto,  $T_t$  é a porcentagem de produto teste dissolvido em cada ponto e  $n$  é o número de pontos de amostragem) e para que os perfis comparativos sejam adequados este valor deve ser  $\geq 50$  (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2019; BRITISH, 2019; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP, 2019).

Equação 1- Fator de semelhança (F2) para comparação de perfis de dissolução

$$F_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \times \sum_{i=1}^n (R_f - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

Fonte: Food and Drug Administration, 1997.

### 1.3 Técnicas de cristalização/recristalização

O desenvolvimento farmacotécnico/farmacêutico de produtos inovadores e/ou IFA já conhecidos para o uso clínico é árduo e moroso. É comum a alta potência de um candidato a fármaco estar correlacionada a seus grupos apolares o que a torna pouco solúvel. Moléculas de baixa solubilidade podem apresentar problemas de dissolução, problemas de biodisponibilidade e conseqüentemente problemas na eficácia, quando administradas por via oral (CHAUDHARY et al., 2012; KAMBLE, et al., 2018).

A solubilidade e a permeabilidade são os dois critérios de classificação de um IFA no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). As de classe I são aquelas que apresentam alta solubilidade e alta permeabilidade; as de classe II as que apresentam baixa solubilidade e alta permeabilidade; as de classe III são as que apresentam alta solubilidade e baixa permeabilidade; e as de classe IV são as que apresentam baixa solubilidade e baixa permeabilidade, as quais requerem mais atenção quanto a sua efetiva absorção (AMIDON et al., 1995). IFA de baixa solubilidade (classes II e IV) são desafiadores no desenvolvimento de um medicamento. Entretanto, os avanços de tecnologias farmacêuticas (micronização, utilização de sais, utilização de sistemas lipídicos, complexação com ciclodextrinas) vêm conseguindo atenuar estes desafios. Dentre estas, a formação de sais é a mais utilizada, justificando, em parte, porque aproximadamente metade dos medicamentos orais sólidos são sais de IFA (YURTDAS; DEMIREL; GENÇ, 2011; ELDER; HOLMB; de DIEGO, 2013; HEALY, et al., 2016; DOUROUMIS; ROSS; NOKHODCHI, 2017;).

Modificações cristalinas de uma molécula, incluindo as de IFA, têm relação direta com a Engenharia de Cristais, que é definida como o entendimento das diferentes interações intermoleculares existentes em uma estrutura cristalina e a utilização de tal entendimento no planejamento e obtenção de novas formas sólidas com propriedades físicas e químicas melhoradas (CRUZ-CABEZA; REUTZEL-EDENSB; BERNSTEIN, 2015; DESIRAJU;

NANGIA, 2016). Essas novas formas sólidas podem ser sais (IFA ionizado mais um contra-íon), co-cristais (IFA neutro mais um co-formador neutro), amorfos (empacotamento desordenado das moléculas de IFA), hidratos (cristal de IFA + água), solvatos (cristal de IFA + solvente) e polimorfos (do IFA isolado ou de suas formas multicomponentes). Nesse último caso ocorre a mudança do empacotamento cristalino e/ou da conformação intra-molecular mantendo-se a composição química (ELDER; HOLMB; de DIEGO, 2013; HEALY, et al., 2016; DOUROUMIS; ROSS; NOKHODCHI, 2017).

Além do planejamento cristalino (*Crystal Design*) baseado em conhecimentos acumulados de Química Supramolecular, a Engenharia de Cristais envolve também as técnicas de cristalização (*Crystal Growth*), as quais, por si só, podem gerar diferentes formas sólidas de IFA, a exemplo da troca de solventes para obtenção de diferentes polimorfos. Mas as técnicas de crescimento de cristal não se restringem apenas a simples troca do solvente, em que a cristalização será conduzida. Outros fatores como temperatura, concentração/estequiometria, pH, etc, além do método de cristalização em si, podem ser variados (CAIRA, 1998; MORISSETTE, et al., 2004; BRITAIN; GRANT, 2009).

O processo de recristalização de IFA geralmente é empregado na Indústria Farmoquímica com o objetivo de purificação e/ou “*scale up*” da forma sólida a ser usada no medicamento (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006). Já em trabalhos acadêmicos, além de ser usada na obtenção de fases puras, a cristalização/recristalização pode ser usada no sentido de obter cristais de tamanho apropriado para se medir alguma propriedade (e.g., propriedade ótica não linear) ou até mesmo para sua caracterização estrutural (cristais para determinação estrutural por DRXM).

Algumas das variáveis críticas no processo de crescimento de cristais são:

- a) escolha do solvente em que o soluto tenha boa solubilidade;
- b) o número de locais de nucleação (é o primeiro passo num processo de cristalização, as moléculas precisam se aproximar para gerar condições de formação de cristais);
- c) ambiente de cristalização/recristalização;
- d) vibração no local;
- e) temperatura; e
- f) tempo (cristais que se quer obter) (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006).

O solvente usado na cristalização deve ter alto grau de pureza e levar somente à dissolução do soluto. Além de ser compatível (não reagir quimicamente). O soluto deve ser,

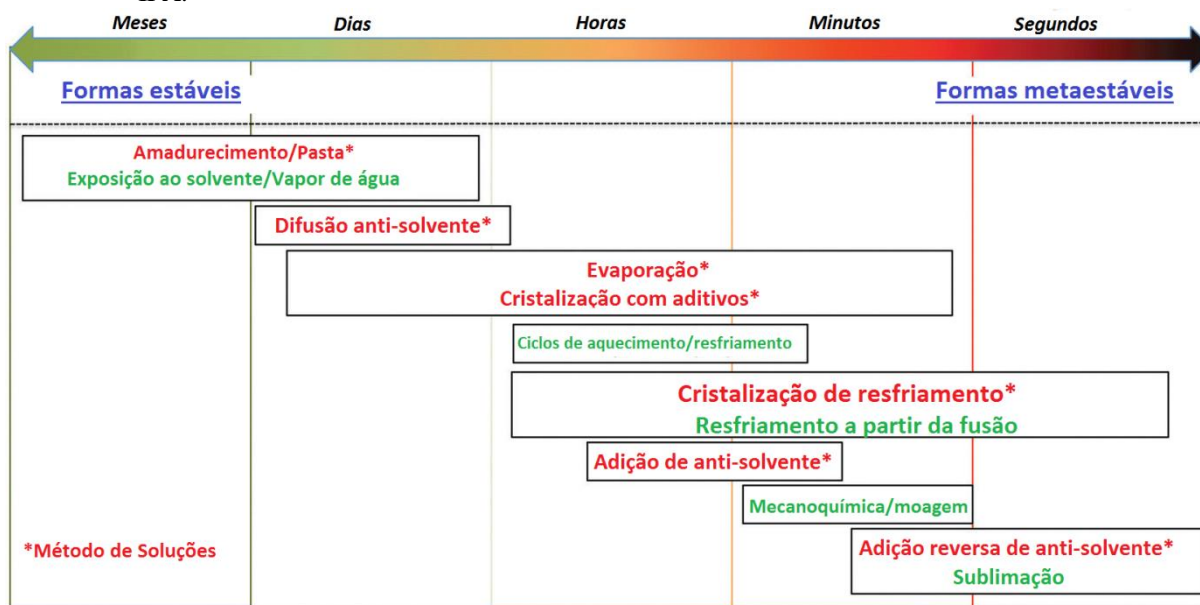
pelo menos, moderadamente solúvel no solvente, que por sua vez precisa também ser suficientemente volátil para levar à cristalização/recristalização por meio de sua evaporação. O frasco usado na cristalização/recristalização deve estar limpo, pois partículas de sujeiras podem induzir a nucleação de fases não esperadas. Além disso, a cristalização deve ser conduzida em um ambiente com pouca perturbação e com temperatura constante (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006).

Os métodos de cristalização mais comuns para obter material policristalino e/ou monocristais de variações sólidas de IFA são:

- a) evaporação lenta de solvente;
- b) resfriamento lento;
- c) variações entre evaporação lenta e resfriamento lento;
- d) difusão de vapor ou anti-solvente;
- e) difusão de solventes (técnica de camadas);
- f) difusão de reagente;
- g) sublimação;
- h) convecção;
- i) co-cristalizantes;
- j) contra-íons;
- k) ionização de compostos neutros;
- l) mecanoquímica; e
- m) cristalização/recristalização utilizando sementes de cristalização (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006).

A Figura 7 compara esquematicamente as diferentes técnicas quanto ao tempo de cristalização/recristalização correlacionando-o com a estabilidade termodinâmica relativa (estável ou metaestável) da forma obtida. Observa-se que o tempo de cristalização é diretamente proporcional à tendência de formação de formas mais estáveis (CAMPETA, 2010; CRUZ-CABEZA; REUTZEL-EDENSB; BERNSTEIN, 2015). Serão detalhadas abaixo as três técnicas que foram utilizadas na parte experimental dessa tese, a de evaporação lenta de solventes, a de difusão de vapor/anti-solvente e a mecanoquímica.

Figura 7 - Técnicas de cristalização/recristalização e tempo envolvido nas pesquisas de novas formas sólidas de IFA.



Fonte: Do autor, adaptada de CRUZ-CABEZA; REUTZEL-EDENSB; BERNSTEIN (2015).

### 1.3.1 Evaporação lenta de solventes

Na técnica de evaporação lenta de solventes, uma solução diluída contendo o IFA é levada lentamente a sua saturação pela evaporação lenta do solvente. Uma das maneiras de desacelerar a evaporação do solvente ou mistura de solventes, quando ele for muito volátil, se dá pela vedação parcial do frasco recristalizador (béquer, *vial*, placa de petri, frasco do tipo usado para armazenar penicilina, etc.). É usual aplicar na boca do recristalizador uma película do tipo parafilme que em seguida é perfurado com um objeto pontiagudo (agulha de injetáveis), possibilitando a saída do vapor do solvente. O número de perfurações (normalmente de 5 a 10) e o diâmetro médio dos furos (normalmente não mais do que 2 mm) podem ser usados como parâmetros para controlar a velocidade de evaporação do solvente. Alternativamente, o recipiente com a solução pode ser vedado com um material (tampa ou septo de borracha) que permita a introdução de uma agulha de seringa, que será a única porta de saída do vapor do solvente, retardando assim a sua evaporação da solução (Figura 8a). A evaporação pode ser feita à temperatura ambiente (sala climatizada com ar condicionado) ou a baixas temperaturas (câmaras com temperatura controlada ou até mesmo refrigeradores e frizer de uso doméstico), ou outros dispositivos/ambientes que evitem mudanças bruscas de temperatura. Outros procedimentos importantes são: abrigar a solução da luz para minimizar a possibilidade de haver alguma degradação catalisada pela radiação UV-vis; minimizar

vibrações, o que inclui o manuseio da recristalização para verificar se houve formação de cristal; controlar a umidade do local de recristalização, principalmente quando os constituintes da solução possam adsorver água de umidade do ar (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006; CUNHA, 2008).

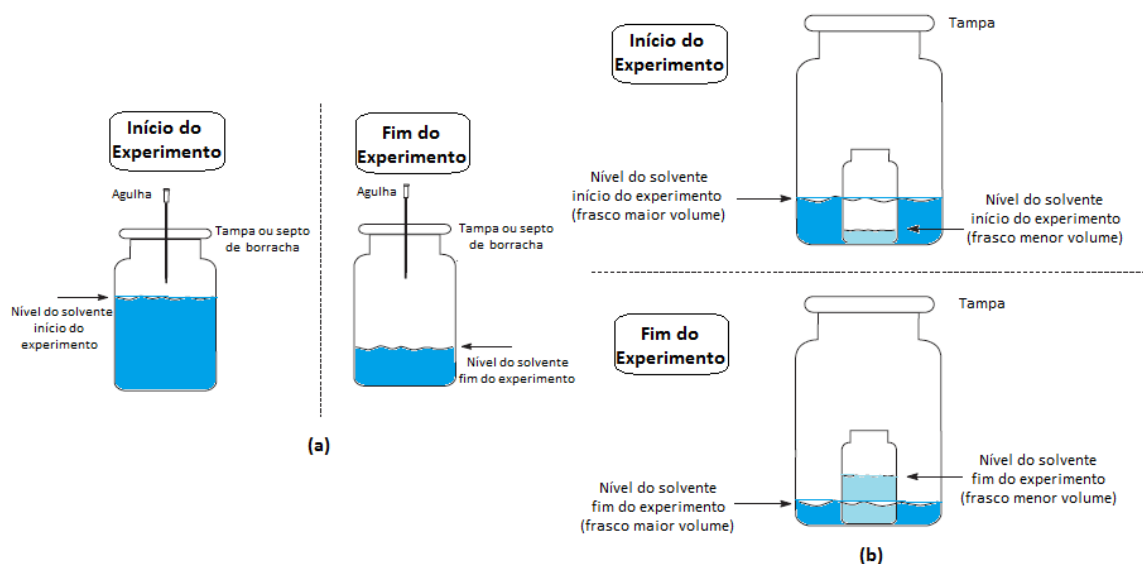
É importante destacar que podem ser necessárias variações nas condições dessa técnica, dependendo do tipo de material cristalino que se busque. Se o objetivo é obter um material cristalino em escala suficiente para as caracterizações e para os estudos de propriedades físicas e químicas, normalmente utilizam-se maiores volumes de solução, com maiores quantidades de soluto. Além disso, pode-se usar um solvente ou um controle de evaporação que leve a uma recristalização mais rápida. Normalmente o produto obtido é policristalino e o sólido é separado da solução remanescente por filtração. Por outro lado, se o objetivo é obter um monocristal para o estudo de DRXM, além de ser necessário obter cristais únicos (também chamados por monocristais o que significa não serem geminados ou inter-crescidos), eles devem ter um tamanho entre 0,05 a 0,5 mm de diâmetro médio. Cristais com essas características normalmente são alcançados preparando-se soluções que contenham massa de soluto suficiente para obter uma coleção de cristais com dimensões de frações de milímetro entre os quais você vai escolher apenas um para o experimento de DRXM. Além disso, deve-se escolher um solvente ou mistura de solvente de baixa volatilidade ou que sua velocidade de evaporação seja reduzida por diminuição de temperatura ou por bloqueios para a saída do vapor de solvente, em equilíbrio com a solução como as descritas acima (Figura 8a) (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006; CUNHA, 2008).

O tempo de recristalização para obtenção de monocristais é quase sempre maior do que o utilizado para obtenção de materiais policristalinos. É quase sempre necessário separar os cristais formados que se depositam no fundo do frasco recristalizador da solução mãe sobrenadante (esgotando-a cuidadosamente por meio de uma pipeta de *Pasteur* ou retirando um a um os monocristais aderindo-os em pontas de agulhas) para evitar o aumento de seu tamanho ou a cristalização de outras fases menos solúveis. É importante destacar que é comum obter monocristais adequados para a DRXM em procedimento planejado para obter o material em escala para as caracterizações e estudo físicos e químicos. Isso obviamente dispensa a necessidade de planejar um experimento específico para obter monocristais (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006; CUNHA, 2008).

### 1.3.2 Difusão de vapor ou de anti-solvente

A difusão de vapor ou de anti-solvente é uma técnica de cristalização/recristalização em que são empregados solventes com polaridades diferentes, que são deixados misturar de forma lenta. A saturação líquido/vapor é o princípio da técnica. Prepara-se uma solução dentro ou transferida para frasco de vidro, que por sua vez é introduzido dentro de um frasco de vidro maior contendo outro solvente. O frasco menor é mantido aberto e o frasco maior é vedado. O princípio de funcionamento desse método é baseado na polaridade dos solventes utilizados. Em que o solvente do frasco maior tem uma menor polaridade e uma maior pressão de vapor do que o solvente usado para preparar a solução presente no frasco menor. Dessa forma, o solvente do frasco maior migra lentamente para a solução do frasco menor (amostra + solvente polar), levando a uma lenta e gradual diminuição da polaridade da solução, até que em um determinado limite inicia-se a nucleação e o crescimento de monocristais (Figura 8b) (HUNTER, 2000; BOYLE, 2006; CUNHA, 2008).

Figura 8 - Representação esquemática das técnicas de recristalização, em (a) evaporação lenta de solventes e em (b) difusão de vapor/anti-solvente.



Fonte: Do autor, adaptada da referência CUNHA, 2008.

### 1.3.3 Mecanoquímica

Uma técnica de cristalização/recristalização que vem crescendo muito ao longo dos anos e sendo cada vez mais empregada para a obtenção de novas formas sólidas de IFA é a

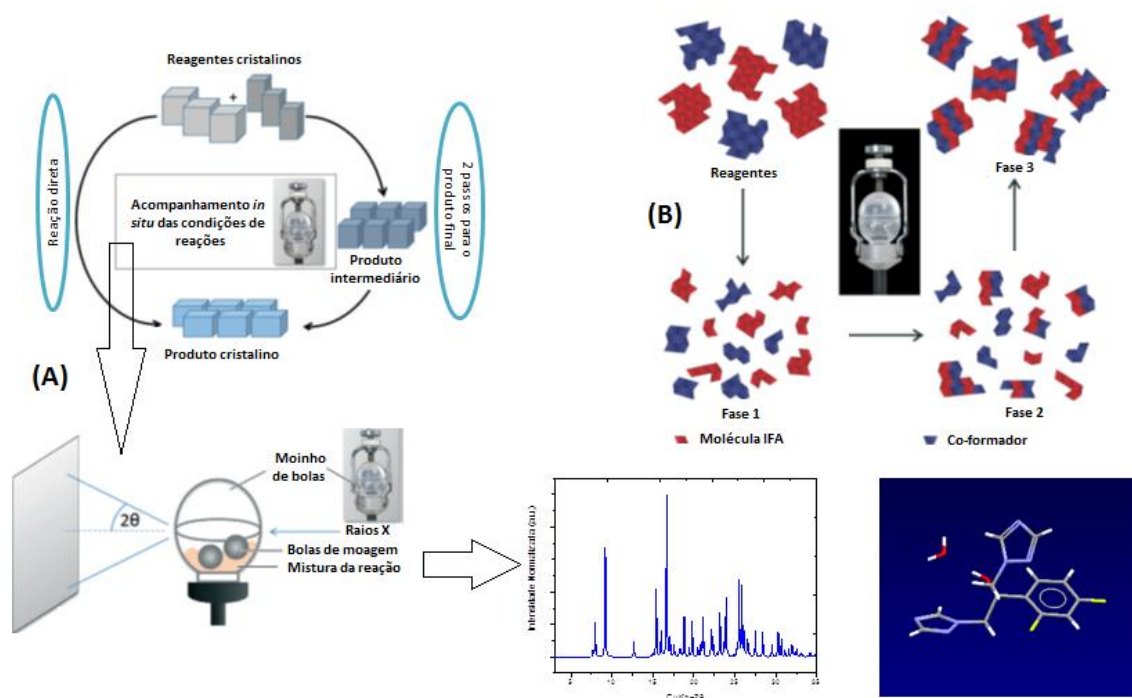
mecanoquímica. A técnica tem como princípio a aplicação de energias mecânicas a um composto ou mistura de compostos químicos causando reações, tais como, a compressão, cisalhamento ou fricção (HORIE, et al., 2004; FERNÁNDEZ-BERTRAN, 2009; GEČIAUSKAITĖ; GARCÍA, 2017). As forças envolvidas nos processos de mecanoquímica são capazes de quebrar as interações existentes e assim provocando as novas reações e obtenção em muitas das vezes de compostos ou fases sólidas esperadas (FISCHER, et al., 2015a).

Podemos citar como exemplos de técnicas mecanoquímicas, a moagem em pilão, ou então a mistura manual de sólido-solvente e sólido-sólido. São técnicas tradicionais e que podem ser influenciadas diretamente pelo ambiente (SHIMIDT, et al., 2015; GEČIAUSKAITĖ; GARCÍA, 2017). Paralelamente, temos técnicas mais avançadas de moagem, principalmente o moinho de bolas, em que se trabalha em ambientes fechados com controle sobre o processo mecânico de reação química entre sólido (IFA, por exemplo) e o solvente (líquido ou sólido) (SHIMIDT, et al., 2015; GEČIAUSKAITĖ; GARCÍA, 2017).

A mecanoquímica tem como vantagem o emprego de nenhum ou muito pouca quantidade de solvente possuindo assim, viés de Química Verde. É também considerada mais rápida (produto obtido em minutos) do que outras técnicas convencionais onde o processo de síntese/cristalização pode levar de horas a dias. Por fim, possibilita acompanhar mais facilmente o progresso das reações químicas ao longo do processo, analisando-se alíquotas por DRXP, RAMAN, DSC e TG, por exemplo (FISCHER, et al., 2015a; SHIMIDT, et al., 2015; GEČIAUSKAITĖ; GARCÍA, 2017).

É uma técnica que tem demonstrado também uma poderosa ferramenta na busca de diferentes formas sólidas de IFA (sais, solvatos/hidratos, co-cristais, polimorfos, etc.) (BATZDORF, et al., 2015; FISCHER, et al., 2015a; FISCHER, et al., 2015b; SHIMIDT, et al., 2015; TAN, D.; LOOTS, L.; FRISCIC, T., 2015; DE MELO, et al., 2016; FISCHER, et al., 2016; GEČIAUSKAITĖ; GARCÍA, 2017). Na Figura 9 podemos verificar como a mecanoquímica é empregada e a importância de poder acompanhar o processo *in situ*.

Figura 9 - Representação esquemática da técnica de mecanoquímica: Em (A) mostra-se a possibilidade que a técnica dá de poder acompanhar as reações *in situ* e em (B) mostra a obtenção esquemática de co-cristais através da mecanoquímica.



Fonte: Do autor, adaptada das referências BATZDORF, et al., 2015 e FISCHER, et al., 2015.

#### 1.4 Doxazosina (DXZ)

As doenças que acometem a próstata englobam o câncer e condições benignas como a prostatite ou a hiperplasia prostática benigna (HPB). Tanto o câncer de próstata quanto a HPB estão entre as dez doenças mais diagnosticadas em homens com mais de 65 anos. A HPB é uma desordem comum do trato urinário masculino e é a principal causa de Sintomas do Trato Urinário Inferior (STUI) em idosos. A HPB afeta uma grande maioria dos homens entre 50 e 90 anos e alguns dados histológicos sugerem que a HPB é evidente em aproximadamente 40% dos homens com 50 a 60 anos e em 90% dos homens de 80 a 90 anos (AKDUMANA; CRAWFORD, 2001; MARBERGER, 2010; BELAL, et al., 2014).

Para o tratamento farmacoterapêutico existem duas classes farmacológicas: os bloqueadores seletivos  $\alpha_1$ -adrenérgicos e os inibidores da  $5\alpha$ -redutase. Os medicamentos antagonistas seletivos dos receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos são amplamente distribuídos nos tecidos prostáticos e agem de maneira competitiva, bloqueando seletivamente estes receptores

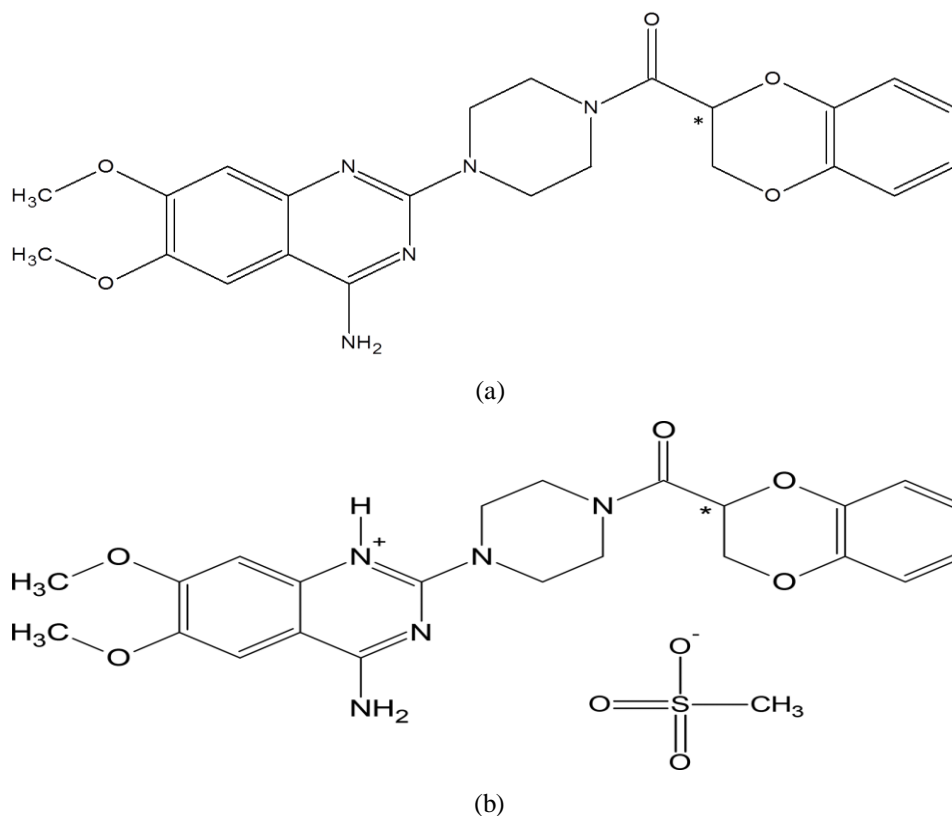
inibindo, assim, a estimulação simpática do músculo liso prostático e a obstrução urinária (GOODMAN; GILMAN, 2006; BELAL, et al., 2014). Dentro dos antagonistas de receptores adrenérgicos, temos a classe das quinazolininas como a doxazosina (DXZ), prazosina e a terazosina, que são amplamente utilizados (AKDUMANA; CRAWFORD, 2001; GOODMAN; GILMAN, 2006; HAO WU, et al., 2015). Tratamentos baseados nos inibidores da 5 $\alpha$ -redutase causam a interrupção da conversão de testosterona em 5 $\alpha$ -diidrotestosterona o que leva à diminuição do volume da próstata. A associação dos dois tratamentos tem alcançado respostas satisfatórias, principalmente no tratamento de homens com o risco maior de evolução da doença (BELAL, et al., 2014).

Os principais medicamentos da classe das quinazolininas são comercializados na forma de sais, como: mesilato de doxazosina (DXZM) comercializado na forma de comprimidos e cápsulas com dosagem máxima de 8 mg de DXZ base livre; cloridrato de terazosina na dosagem máxima de 10 mg de terazosina base livre, em comprimidos e cápsulas; e por fim o cloridrato de prazosina, comercializado na dosagem máxima de 5 mg de prazosina base livre. Todos são comercializados como medicamentos referência, genérico e similar. No mercado farmacêutico americano o DXZM, está entre os medicamentos mais comercializados para o tratamento da HPB e, ou, hipertensão primária (LIU; ZHU, 2007; DRUG BANK, 2018; IOWA PDL, 2018).

A Doxazosina (DXZ) (Figura 10a), (RS)-[4-(4-amino-6,7-dimetoxi-quinazolina-2-yl)piperazina-1-yl]- (2,5-dioxabicyclo[4.4.0] deca-6,8,10-trien-4-yl) metanona ou (RS)-2-{4-[(2,3-dihidro-1,4-benzodioxina-2-yl)carbonil]piperazina-1-yl}-6,7-dimetoxiquinazolina-4 amina é um fármaco da classe das quinazolininas e foi introduzido no mercado em 1990 pela Pfizer na forma do sal de mesilato (DXZM) (Figura 10b) sob as marcas Cardura<sup>®</sup> e Carduran<sup>®</sup> (CHUNG, M. et al., 1999; DRUGBANK, 2018). Como é um sal de base fraca (pka = 6,93), espera-se que sua solubilidade seja pH-dependente.

Um número grande de polimorfos para o DXZM tem sido reivindicado em patentes (GRAFE; MORSDORF, 1996; GRAFE; MORSDORF, 1996; GRAFE; MORSDORF, 1996; CANNATA, et al., 1997; MORSDORF; GRAFE, 1997; MORSDORF; GRAFE, 1997; MORSDORF; GRAFE, 1997; BIRKENHEIDE, et al., 1998; AGUILAR, et al., 2000; GIRIDHAR, et al., 2000; AGUILAR, et al., 2000; GIRIDHAR, et al., 2001; KANKAN, et al., 2008) e/ou relatado em artigos (LIYING, et al., 1995; GRCMAN, et al., 2002; CHERNYSHEV, et al., 2003; SOHN; LEE, 2005).

Figura 10 - Representação esquemática da estrutura molecular da (a) DXZ e do (b) DXZM.



Fonte: Do autor.

Em 1995 foi publicado o primeiro trabalho descrevendo diferentes polimorfos do DXZM, em que três formas foram reivindicadas e denominadas como forma A, B e C (SOHN; LEE, 2005). Subsequentemente, as formas denominadas como, formas I (GRAFE; MORSDORF, 1996; MORSDORF; GRAFE, 1997), II (GRAFE; MORSDORF, 1996; MORSDORF; GRAFE, 1997) e III (GRAFE; MORSDORF, 1996; MORSDORF; GRAFE, 1997) foram reivindicadas em seis patentes da empresa farmacêutica Heumann e a ocorrência das formas D e E foi publicada (BIRKENHEIDE, et al., 1998; GIRIDHAR, et al., 2000; GIRIDHAR, et al., 2001). Simultaneamente, foi reivindicada outra forma, denominada “forma Cristalina”, que não utiliza o esquema de identificação A, B, C... ou I, I, II... (SOHN; LEE, 2005). Algumas patentes, subsequentes, reivindicaram processos para a preparação das diferentes formas previamente relatadas (BIRKENHEIDE, et al., 1998; AGUILAR, et al., 2000; AGUILAR, et al., 2000; GIRIDHAR, et al., 2000; GIRIDHAR, et al., 2001). Em geral, os polimorfos são designados pela ordem cronológica em que foram relatados (CARSTENSEN, 2001). No entanto, como consequência da ausência de regras de nomenclatura para polimorfos, a designação daqueles que ocorrem para o DXZM é um bom

exemplo de diferentes sequências de denotação polimórfica. Independentemente de adotar a mesma sequência (os habituais 1, 2, 3, ... ou I, II, III, ... ou alfabéticos A, B, C, ... /  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , ...), é comum encontrar-se na literatura diferentes polimorfos com uma mesma designação ou um mesmo polimorfo sendo diferentemente nomeado. Este é também o caso dos polimorfos DXZM, uma vez que é fácil concluir, por exemplo, que a forma A de Chernyshev (CHERNYSHEV, et al., 2003) e a forma III de Grafe e Morsdorf (GRAFE; MORSDORF, 1996; MORSDORF; GRAFE, 1997) apresentam a mesma estrutura cristalina comparando os seus padrões de DRXP. Dessa forma, para o caso específico do DXZM, houve uma iniciativa para harmonizar a designação sequencial de seus polimorfos, remarcando a sequência numérica I, II e III para alfabéticos G, H e A, respectivamente. Esses mesmos autores denominaram a forma Cristalina de Grcman como forma F e reivindicaram dois novos polimorfos, que foram denominados como forma E e I (GRCMAN, et al., 2002). Alguns anos depois, outro trabalho descreveu nove formas do DXZM argumentando que seus padrões de DRXP eram diferentes daqueles previamente relatados na literatura. Esses nove supostamente novos polimorfos foram designados pela numeração arábica em sequência como, formas 1, 2, ..., 9 (SOHN; LEE, 2005). Mais recentemente, uma forma adotando uma sequência numérica romana foi denominada como forma IV, considerando que seu padrão DRXP não era comparável com nenhuma forma anterior (KANKAN, et al., 2008). Portanto, são relatados na literatura ao menos 20 polimorfos para o DXZM, os quais estão resumidos e mostrados no Quadro 2. Além da forma de sal anidro, também é conhecida a estrutura de uma forma diidratada do DXZM (CHERNYSHEV, et al., 2003). Como a forma hidratada foi obtida seguindo o método descrito para obter a forma G, ela foi denominada por Grafe e Morsdorf (MORSDORF; GRAFE, 1997) como forma *dG* (d = diidratado). Surpreendentemente, nenhuma informação de cristal está disponível na literatura para a base livre da doxazosina, tanto como forma monocomponente ou formas multicomponentes do tipo solvato ou hidrato.

Quadro 2 - Lista da literatura relevante/patentes reportadas com atribuições dos correspondentes polimorfos do mesilato de doxazosina (hidratos não incluídos) usando a notação de Grcman et al. 2002.

| Autores           | Ano       | Os nove polimorfos com a notação alfabética de Grcman et al.. |   |   |   |   |     |    |    |                | Outros † |    |   |
|-------------------|-----------|---|---|---|---|---|-----|----|----|----------------|----------|----|---|
|                   |           | A   | B | C | D | E | F   | G  | H  | I              | 1-9      | IV |   |
| Liyang et al.     | 1995      | A   | B | C | - | - | -   | -  | -  | -              | -        | -  | - |
| Grafe et al.      | 1996/1997 | III   | - | - | - | - | -   | I* | II | -              | -        | -  | - |
| Cannata et al.    | 1997      | -   | - | - | - | - | FC# | -  | -  | -              | -        | -  | - |
| Klein et al.      | 1998      | A   | - | - | D | - | -   | -  | -  | -              | -        | -  | - |
| Giridhar et al.   | 2000/2001 | A   | - | - | D | - | -   | -  | -  | -              | -        | -  | - |
| Grcman et al.     | 2002      | A   | - | - | D | E | F   | G  | H  | I <sup>±</sup> | -        | -  | - |
| Chernyshev et al. | 2003      | A   | - | - | - | - | -   | -  | -  | -              | -        | -  | - |
| Sohn et al.       | 2005      | -   | - | - | - | - | -   | -  | -  | -              | 1-9      | -  | - |
| Kankan et al.     | 2008      | -   | - | - | - | - | -   | -  | -  | -              | -        | IV | - |

Fonte: Do autor.

Legenda: \* numérico; ± alfabético; # FC = forma cristalina; † reivindicado após a harmonização de nomenclatura de Grcman et al..

### 1.5 Fluconazol (FLU)

Nas últimas décadas as infecções causadas por fungos têm ocorrido com maior frequência e gravidade como consequência da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), de terapias imunossupressoras para tratamento de câncer ou para reprimir a rejeição de órgãos transplantados. Apesar disso, os fungos ainda são patógenos negligenciados em termos de descoberta de novos medicamentos (NIRMALA, et al., 2013; ABRANCHES, et al., 2015).

Dentre os poucos antifúngicos conhecidos, o FLU (Figura 11), aprovado pelo FDA em 1990 (DRUGBANK, 2018) é o medicamento de escolha para o tratamento de infecções causadas por *Candida albicans* ou *Cryptococcus*. É também utilizado frequentemente como agente profilático na terapia de pacientes com SIDA ou em terapia imunossupressora (ALKHAMIS; OBAIDAT; NUSEIRAT, 2002; KASTELIC, et al., 2010; THAKUR, et al., 2014).

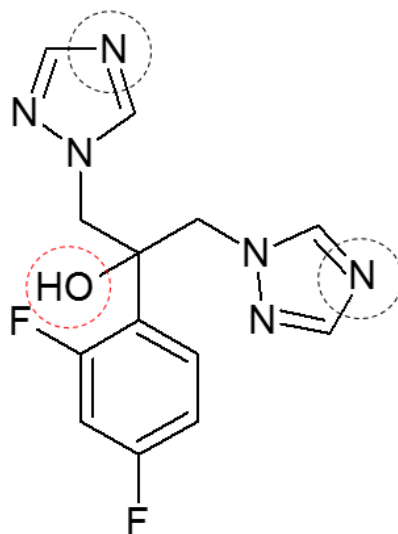
O FLU é um antifúngico derivado do triazol, detentor de amplo espectro de ação e segurança o que faz com que ele seja um fármaco de grande utilização clínica. Sua ação fungistática se dá por meio da inibição do citocromo P-450 fúngico, a qual diminui a conversão de lanosterol em ergosterol interferindo diretamente na síntese de membrana celular fúngica (MOURA, et al., 2010; BHESANIYA; NANDHA; BALUJA, 2014; ABRANCHES, et al., 2015).

O FLU é um sólido branco ou quase branco e inodoro com nome IUPAC 2- (2,4-difluorofenil) -1,3-bis (1H-1,2,4-triazol-1-il) -2-propanol, fórmula molecular  $C_{13}H_{12}F_2N_6O$  (Figura 11), massa molar de 306,27 g, coeficiente de partição,  $\text{Log P} = +0,5$  e faixa de fusão entre 138 e 140 °C. Sua monografia da Pfizer o descreve como uma base fraca com pKa de 1,76 a 24 °C e, conseqüentemente, essencialmente não protonado a valores de pH acima de 3,5 (PFIZER, 2010). Já o DRUGBANK fornece os valores de pKa 12,71 em ácidos fortes e 2,56 em bases fortes (DRUGBANK, 2018). Contudo, a molécula de FLU possui três grupos passíveis de protonação/desprotonação o que leva a três valores de pKa: 11,01, 2,94, e 2,56 (Figura 11) (CORREA; VIANNA-SOARES; SALGADO, 2012). Os dois valores de pKa na faixa de pH ácido estão associados aos nitrogênios dos dois anéis triazólicos enquanto o valor de pKa na faixa de pH alcalino está associado ao grupo álcool presente na molécula (CORREA; VIANNA-SOARES; SALGADO, 2012). Portanto, em pH fisiológico, o FLU apresenta-se em sua espécie neutra. O FLU é um IFA pouco solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, solúvel em etanol e acetona, ligeiramente solúvel em álcool isopropílico e clorofórmio, pouco solúvel em tolueno, sendo solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais e hidróxidos alcalinos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; CORREA; VIANNA-SOARES; SALGADO, 2012; EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2019; BRITISH, 2019; USP, 2019).

Estudos de farmacocinética mostram que o FLU apresenta uma absorção em torno de 90%, tendo baixa ligação às proteínas plasmáticas e metabolismo pela via hepática apresentando uma meia vida em torno de 30 horas, podendo variar de 20 a 50 horas (DEBRUYNE; RYCKELYNCK, 1993; DRUGBANK, 2018).

É um fármaco administrado principalmente por via oral e está presente na lista do FDA na forma de comprimidos (50, 100, 150 e 200 mg) comercializado pela Pfizer com a marca Diflucan<sup>®</sup>, a mesma detentora da marca o comercializa como pó para suspensão oral nas concentrações 50 mg / 5 mL e 200 mg / 5 mL (FDA, 2018b). No Brasil consta na lista de medicamentos referência na forma farmacêutica de cápsulas duras, comercializado também pela Pfizer nas concentrações de 50, 100, 150 mg. Além do referência (Zoltec<sup>®</sup>), se comercializa o FLU como medicamento similar e genérico. Na lista atual da ANVISA consta também uma apresentação de solução injetável para infusão intravenosa na concentração de 2 mg/mL, com mesma marca de comercialização das cápsulas duras (KASTELIC, et al., 2010; MOURA, et al., 2010; ABRANCHES, et al., 2015; DRUG BANK, 2018; ANVISA, 2018b).

Figura 11 - Representação esquemática da estrutura molecular do FLU destacando por meio de linhas tracejadas os grupos envolvidos na protonação/desprotonação da molécula.



Fonte: Do autor.

O FLU apresenta um grande número de formas sólidas (LO, et al., 1994; GU; JIANG, 1995; DASH; ELMQUIST, 2001; ALKHAMIS, et al., 2002; KREIDL, et al., 2002; CAIRA, et al., 2004; KASTELIC, et al., 2010; KASTELIC, et al., 2011; KARANAM, et al., 2012; KASTELIC, et al., 2013; ORBEN; DITTRICH, 2014) como consequência de vários estudos buscando variações sólidas (polimorfos e outras formas multicomponentes) que permitam a melhoria da sua solubilidade e taxa de dissolução e assim sua biodisponibilidade e eficácia (KASTELIC, et al., 2010; YURTDAS; DEMIREL; GENÇ, 2011; ZHANG, et al., 2013; THAKUR, et al., 2014; ABRANCHES, et al., 2015).

Há controvérsias na literatura em relação à solubilidade e permeabilidade do FLU e conseqüentemente quanto a sua classificação biofarmacêutica (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004; BERGSTROM, et al., 2014; CHAROO, et al., 2014; CHAROO; CRISTOFOLETTI; DRESSMAN, 2015; MATSUI, et al., 2015; TELEGINSKI, et al., 2015). Embora existam estudos que demonstrem sua baixa solubilidade aquosa (DEBRUYNE; RYCKELYNCK, 1993; WALSH, 2008; YURTDAS; DEMIREL; GENÇ, 2011; ABRANCHES, et al., 2015), o FLU é considerado um fármaco de alta solubilidade no sistema de classificação biofarmacêutica. Mas há também divergências quanto a sua permeabilidade. Alguns autores o consideram um IFA de classe I (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004; CHAROO, et al., 2014; CHAROO; CRISTOFOLETTI; DRESSMAN,

2015; MATSUI, et al., 2015) e outros de classe III (RAMIREZ, et al., 2010; BERGSTROM, et al., 2014).

Recentemente, por meio de uma instrução normativa (IN Nº 10 de 29 de setembro de 2016) a ANVISA incluiu o FLU na lista de medicamentos com bioisenção, devido à sua classificação no SCB ser como altamente solúvel (ANVISA, 2018c). A inclusão é discutível considerando o número de pesquisas buscando novas formas sólidas do FLU, visando melhorar sua solubilidade e velocidade de dissolução e conseqüentemente biodisponibilidade e eficácia (LO, et al., 1994; LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004; GU; JIANG, 1995; DASH; ELMQUIST, 2001; ALKHAMIS, et al., 2002; KREIDL, et al., 2002; CAIRA, et al., 2004; KASTELIC, et al., 2010; YURTDAS; DEMIREL; GENÇ, 2011; KARANAM, et al., 2012; NIRMALA, et al., 2013; BERGSTROM, et al., 2014; CHAROO, et al., 2014; ORBEN; DITTRICH, 2014; THAKUR, et al., 2014; ABRANCHES, et al., 2015; CHAROO; CRISTOFOLETTI; DRESSMAN, 2015; MATSUI, et al., 2015; TELEGINSKI, et al., 2015).

As formas sólidas contendo o FLU com estrutura determinada incluem formas monocomponentes (polimorfos da base livre) e multicomponentes (hidratos, solvatos e cocristais). Existem cinco polimorfos com estrutura reportada, os quais são denominados na literatura por polimorfos III (CAIRA, et al., 2004) 4, 5, 6 e 7 (KARANAM, et al., 2012). São conhecidas estruturas de seus co-cristais com ácido glutárico, ácido fumárico, ácido maleico (KASTELIC, et al., 2010), ácido malônico (KASTELIC, et al., 2013), ácido salicílico (KASTELIC, et al., 2011), ácido fumárico (co-cristal hidratado); ácido málico; ácido dipicolínico e ácido adípico (OWOYEMI, et al., 2019). A estrutura do FLU monohidratado é também conhecida (CAIRA, et al., 2004; ORBEN; DITTRICH, 2014) além de um solvato de acetato de etila (CAIRA, et al., 2004).

Embora os primeiros relatos de polimorfismo envolvendo o FLU sejam de 1994 (LO, et al., 1994), somente dez anos depois o FLU teve sua primeira estrutura determinada, sendo denominada por FLU “forma III” (CAIRA et al., 2004). O padrão de difração de raios X por policristais (DRXP) calculado a partir da estrutura determinada coincide com os padrões de DRXP experimentais da “forma anidra” (LO, et al., 1994), “da forma II” (GU & JIANG, 1995), da “forma III” (DASH; ELMQUIST, 2001) e da “modificação cristalina II” (KREIDL, et al., 2002) previamente publicados, mostrando tratarem-se de um mesmo polimorfo com denominações diferentes nos trabalhos independentes. Mais recentemente, quatro novos polimorfos do FLU tiveram suas estruturas determinadas, os quais foram chamados de polimorfos 4, 5, 6 e 7 (KARANAM, et al., 2012). Contudo, o ineditismo do polimorfo 5 é

questionável uma vez que o padrão de DRXP calculado do polimorfo 5 é bastante semelhante aos experimentais da “forma sólida” descrita por LO, et al. (1994) e KREIDL, et al. (2002).

É importante salientar que além dos cinco polimorfos com estruturas determinadas, existem outros polimorfos reivindicados na literatura e patentes. Dados de DRXP experimentais que não coincidem com os padrões de DRXP calculados de nenhum dos cinco polimorfos com estrutura determinada, apontam para a existência de outro polimorfo ainda sem estrutura determinada, designado tanto como “polimorfo 2” (GU; JIANG, 1995) ou “forma I” (DASH; ELMQUIST, 2001; ALKHAMIS, et al., 2002).

O FLU tem também uma forma hidratada (um monodrato) com estrutura conhecida (CAIRA, et al., 2004). A existência dessa forma hidratada tinha sido comprovada anteriormente por dados de DRXP e TGA a qual foi chamada em dois trabalhos independentes por “forma monoidratada 2” (DASH; ELMQUIST, 2001) e “monodrato” (ALKHAMIS, et al., 2002). É possível encontrar na literatura outras variações sólidas do FLU consideradas como formas hidratadas, as quais foram chamadas nos trabalhos originais por “forma monoidratada” (LO, et al., 1994) e “forma monoidratada 1”, também chamada de “modificação cristalina I” (KREIDL, et al., 2002), cujos padrões de DRXP não coincidem entre si e nem com o da forma hidratada com estrutura determinada. Portanto, é provável que existem outras formas hidratadas do FLU, como polimorfos do monodrato ou como hidratos com outras estequiometrias IFA:H<sub>2</sub>O. Um sumário das reais diferentes formas do FLU e suas cronologias terminológicas são apresentados no Quadro 3.

Apesar do número expressivo de diferentes formas cristalinas do FLU reportadas ao longo dos anos que sucederam seu lançamento no mercado (1990), existem poucos estudos comparando suas propriedades físico-químicas. Quanto à solubilidade e/ou velocidade de dissolução, há comparação de performance de apenas dois polimorfos e o monodrato do FLU.

Dados de dissolução demonstraram que o FLU-5 apresenta velocidade de dissolução menor e mais lenta do que o polimorfo 7 (DESAI; DHARWADKAR, 2009) sugerindo que o FLU-5 é mais estável que o polimorfo 7 (OBAIDAT; ALKHAMIS; SALEM, 2010). Em outro trabalho foi demonstrada a seguinte ordem de solubilidade e velocidade de dissolução: Polimorfo 7 > FLU-5 > FLU-H<sub>2</sub>O (Tabela 1) (PARK, et al., 2010). Contudo, foi também demonstrado que o polimorfo 7 se converte no FLU-5 ou FLU-H<sub>2</sub>O durante a dissolução intrínseca e que o FLU-5 se converte no FLU-H<sub>2</sub>O durante o estudo de solubilidade (PARK et al., 2010).

Quadro 3 - Formas sólidas reportadas na literatura para o FLU.

| Nomenclatura utilizada na tese | Primeiro Relato                             | Outros Nomes   | Estrutura Cristalina                           |
|--------------------------------|---|--|--|
| Forma III                      | Forma Anidra<br>(LO et al., 1994)           | Forma II<br>(GU; JIANG, 1995)<br><br>Forma III<br>(DASH; ELMQUIST, 2001)<br><br>Modificação cristalina II<br>(KREIDL et al., 2002)<br><br>Forma III<br>(CAIRA et al. 2004)   | Forma III<br>(CAIRA et al. 2004)               |
| FLU-5                          | Forma Monoidratada<br>(LO et al., 1994)     | Forma I<br>(GU; JIANG, 1995)<br><br>Forma II<br>(DASH; ELMQUIST, 2001)<br><br>Modificação Cristalina I<br>(KREIDL et al., 2002)<br><br>Forma I<br>(ALKHAMIS et al. 2002)<br><br>Polimorfo 5<br>(KARANAM, et al., 2012) | Polimorfo 5<br>(KARANAM, et al., 2012)         |
| FLU-H <sub>2</sub> O           | Monoidrato<br>(DASH; ELMQUIST, 2001)        | Monoidrato<br>(ALKHAMIS et al. 2002)<br><br>Fluconazol monoidratado<br>(CAIRA et al. 2004)   | Fluconazol monoidratado<br>(CAIRA et al. 2004) |
| Polimorfo 7                    | Forma II<br>(ALKHAMIS et al. 2002)          | Polimorfo 7<br>(KARANAM, et al., 2012)   | Polimorfo 7<br>(KARANAM, et al., 2012)         |
| Polimorfos 4-7                 | Polimorfos 4-7<br>(KARANAM, et al., 2012)   | -  | Polimorfos 4-7<br>(KARANAM, et al., 2012)      |
| Polimorfos 8 e 9               | Polimorfos 8 e 9<br>(KARANAM, et al., 2012) | -  | -  |

---

Fonte: Do autor.

Entretanto, os valores obtidos não podem ser considerados inerentes aos dois polimorfos e sim à forma remanescente em equilíbrio com a solução, ou seja, os do FLU-H<sub>2</sub>O. Como esperado, em estudos de estabilidade forçada em condições de umidade relativa elevada (superiores a 41%) que tanto o polimorfo 7 quanto o FLU-5 se convertem no FLU-H<sub>2</sub>O, em que o FLU-5 necessita de mais tempo para sua total conversão (OBAIDAT; ALKHAMIS; SALEM, 2010). Esse resultado aponta mais uma vez para uma maior estabilidade do FLU-5 em comparação ao polimorfo 7.

Tabela 1 - Solubilidade e dissolução intrínseca de algumas formas sólidas do FLU (em água deionizada a 25 °C).

| Forma                | Solubilidade medida (mg/mL) | Velocidade de Dissolução intrínseca (mg/min cm <sup>2</sup> ) | Solubilidade estimada (mg/mL) |
|----------------------|-----------------------------|---|-------------------------------|
| FLU-5                | 4,96                        | 0,56  | 5,02                          |
| Polimorfo 7          | 6,59 (máximo)               | 0,88 (máximo)   | 7,88                          |
|                      | 5,09 (equilíbrio)           | 0,59 (equilíbrio)   |                               |
| FLU-H <sub>2</sub> O | 4,21                        | 0,47  | **                            |

Fonte: Do autor, adaptada da referência PARK et al., 2010.

Estudos baseados em DSC e DRXP mostraram que o FLU-5 funde sem decompor em torno de 141 °C formando um sólido amorfo quando retornado à temperatura ambiente. Após ser novamente aquecido, o material amorfo sofre transição vítrea, de cristalização em 31 e 81 °C, respectivamente, sendo a fase cristalina formada atribuída ao polimorfo 7. Continuando o aquecimento, o evento observado próximo a 138 °C é atribuído à fusão do polimorfo 7, cristalização do FLU-5 e finalmente à fusão do FLU-5 (141 °C) (DESAI; SHAIKH; DHARWADKAR, 2003). A mesma sequência de transições de fase foi observada em trabalhos posteriores, havendo apenas pequenas diferenças das temperaturas dos eventos observados nas curvas de DSC (DESAI; DHARWADKAR, 2009; MOURA, et al., 2010). Esses resultados corroboram à maior estabilidade do FLU-5 em relação ao polimorfo 7.

Além disso, foram observadas transições de fase polimórficas do FLU induzidas por pressão (PARK, et al., 2007; OBAIDAT; ALKHAMIS; SALEM, 2010; PARK, et al., 2010; GORKOVENKO, et al., 2015).

Portanto, a diversidade de polimorfos relatados para o FLU e a possibilidade de transições de fase promovidas por umidade, temperatura e pressão explicam o fato de diferentes polimorfos do FLU ou mistura deles serem frequentemente encontrados em matérias-primas desse IFA (PARK, et al., 2010).

Ainda que exista diferença nas solubilidades e velocidades de dissolução das diferentes formas cristalinas do FLU, nenhum impacto foi observado em estudos de bioequivalência em produtos do mercado. Na literatura é relatada a bioequivalência ou diferenças insignificantes na farmacocinética entre os produtos avaliados (CHAROO, et al., 2014).

Por tudo que foi mencionado acima, abrangendo a controvérsia de sua classificação no SCB, o número de polimorfos conhecidos, possibilidade de transições de fases incluindo polimorfo-polimorfo e polimorfo-hidrato, poucos trabalhos de caracterização físico-química, pode-se dizer que estudos envolvendo o dilema das formas sólidas, no caso do FLU, é ainda um campo de pesquisa interessante, tanto no viés dos desafios de preconizar e identificar a forma que deva estar em insumos e medicamentos, quanto na oportunidade de se obter novas formas que ofereçam melhorias biofarmacêuticas e/ou farmacotécnicas.

Considerando todo o contexto deste IFA, em relação às suas diferentes formas sólidas e o relato de alguns problemas de dissolução verificados pelo NCQ da UNIFAL/MG, este trabalho visa investigar os eventos de transição de fase cristalina envolvendo o FLU-H<sub>2</sub>O, avaliar diferentes fornecedores de matérias-primas, investigar as formas sólidas presentes nos medicamentos comercializados, avaliar o impacto das diferentes formas sólidas do FLU (obtidas no estudo térmico do FLU-H<sub>2</sub>O) na solubilidade do IFA e, por fim, buscar novas formas sólidas do IFA.

## 2 MOTIVAÇÃO X OBJETIVOS

A seguir serão descritas as motivações e objetivos para a realização dessa tese.

### *2.1 Motivação e Relevância do Tema de Estudo*

Em termos gerais, o estudo de diferentes formas sólidas de IFA normalmente tem como motivação:

- a) melhor entendimento da relação entre as diferentes estruturas cristalinas com as respectivas propriedades físicas e químicas apresentadas;
- b) estudar transições de fases polimórficas ou de hidratação/desidratação;
- c) obter formas sólidas mais solúveis quando o IFA for de classe II ou IV no SCB ou que tenham melhores propriedades farmacotécnicas;
- d) reportar novas técnicas de desenho e cristalização de IFA, de maneira a reduzir custo de produção;
- e) utilizar diferentes técnicas de caracterização, para comprovar a pureza ou quantificar fases cristalinas presentes em misturas;
- f) ou comparar propriedades físicas e químicas de diferentes formas cristalinas de IFA.

Especificamente, a DXZ foi escolhida como um dos IFA a serem estudados nessa tese motivado pelo grande número de polimorfos reportados na literatura para o seu sal de mesilato (forma comercial que é classificada como de baixa solubilidade) sem haver, contudo, a comprovação da existência por meio da determinação estrutural. Dos pelo menos 20 diferentes polimorfos do DXZM sugeridos/reivindicados em artigos e patentes, apenas um tem estrutura determinada. Além disso, a estrutura da doxazosina base livre (DXZ-BL) também era desconhecida. Ou seja, esse trabalho teve como motivação reproduzir (cristalizar) os diferentes polimorfos do DXZM e de sua base-livre, para determinar suas respectivas estruturas, vislumbrando contribuir para o melhor entendimento da relação das estruturas com as propriedades físicas e químicas de interesse farmacêutico.

A escolha do FLU também teve como sustentação motivacional o número de polimorfos relatados na literatura e a ausência de um estudo sistemático que comparasse a solubilidade e a velocidade de dissolução desses polimorfos. Adicionalmente, teve-se como

motivação a busca da melhor compreensão das transições de fase envolvendo a desidratação da forma hidratada e a cristalização do FLU a partir de sua fase líquida (FLU fundido).

## 2.2 *Objetivos*

O objetivo geral dessa tese consistiu em realizar um estudo de cunho Cristalográfico, Físico-Químico e Farmacêutico, aplicado aos IFA DXZ e FLU, ambos considerados ou com relatos de baixa solubilidade e com diferentes formas cristalinas mono e multicomponentes (hidratos, sais, co-cristais), incluindo polimorfos, descritos na literatura.

Os objetivos específicos dessa tese foram:

### DXZ

- a) cristalizar amostras mono- e/ou policristalinas de novas formas sólidas da DXZ, caracterizá-las e determinar suas estruturas por técnicas de difração de raios X;
- b) obter amostras monocristalinas e/ou policristalinas das formas cristalinas da DXZ já conhecidas, mas que não tem estrutura conhecida, com o intuito de determiná-las;
- c) realizar os estudos de solubilidade em equilíbrio comparando as diferentes formas sólidas obtidas.

### FLU

- d) caracterizar amostras comerciais no sentido de identificar a forma sólida presente em matérias-primas (IFA) ou formulações (IFA + excipientes) do FLU;
- e) cristalizar amostras mono- e/ou policristalinas de novas formas sólidas do FLU, caracterizá-las e determinar suas estruturas por técnicas de difração de raios X;
- f) realizar um estudo térmico visando estabelecer as fases provenientes da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O, bem como da solidificação do FLU após sua prévia liquefação;
- g) realizar os estudos de solubilidade em equilíbrio comparando as diferentes formas sólidas obtidas no estudo térmico do FLU-H<sub>2</sub>O, para avaliar o impacto das diferentes estruturas cristalinas nas propriedades físicas e químicas de interesse farmacêutico;
- h) realizar estudos de estabilidade (zona IV-b) para avaliar a forma sólida presente no IFA e produto acabado (cápsulas) do FLU.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

A seguir serão descritas todas as metodologias, reagentes e equipamentos utilizados na realização deste trabalho.

#### *3.1 Amostras*

A seguir serão descritas a origem das amostras utilizadas no desenvolvimento dessa tese.

##### **3.1.1 DXZ**

O sal de mesilato (DXZM), o qual é a modificação cristalina usada em formulações farmacêuticas sólidas de DXZ, foi adquirido da empresa Gemini Ind. De Insumos (Goiás, Brasil), sendo o produto de fabricação da indústria farmoquímica Nifty Labs, localizado em Kondapally na Índia.

##### **3.1.2 FLU**

Utilizou-se nesse trabalho matéria-prima de FLU de três diferentes fornecedores e de diferentes lotes:

- a) do Núcleo de Controle de Qualidade (NCQ/UNIFAL-MG) distribuída pela Gemini Ind. de Insumos;
- b) fabricante A (não identificado por solicitação do fornecedor);
- c) fabricante B (não identificado por solicitação do fornecedor).

Também foram feitas análises de três diferentes medicamentos do FLU existentes no mercado, o referência (R), o genérico (G) e o similar (S), todos comercializados em cápsulas duras e dosagem de 150 mg. As marcas do genérico e similar não serão divulgadas por questões éticas.

### 3.2 Reagentes

Os principais reagentes utilizados nos experimentos de recristalização desse trabalho são: acetonitrila (J.T. Baker), metanol (Neon), ácido clorídrico (Sciavicco), ácido fosfórico (ACS Synth), acetona (Alphatec), etanol (Dinâmica), ácido maleico (Sigma-Aldrich), hidróxido de sódio (Dinâmica) e sacarina (Sigma-Aldrich), foram todos de grau de pureza PA.

### 3.3 Obtenção das formas sólidas da DXZ

A análise por DRXP do insumo da DXZ utilizado nesse trabalho mostrou que o seu difratograma experimental é muito semelhante ao identificado na literatura como forma H do DXZM (GRCMAN, et al., 2002). Assim, a matéria-prima será chamada a partir desse momento por DXZM-H. A DXZM-H foi usada como material inicial de todas as tentativas de recristalizações subsequentes, exceto na tentativa de obtenção de novos sais, em que foi utilizado o material policristalino da base-livre, previamente obtido a partir do DXZM-H.

A recristalização por evaporação lenta de solventes foi a técnica majoritariamente empregada na tentativa de obtenção de novas formas sólidas de DXZ. As formas almejadas incluíram: a) a da base livre da DXZ e seus polimorfos; b) os polimorfos da DXZM reportados na literatura; c) polimorfos inéditos do DXZM; d) novos sais (outros contra-ions aniônicos) da DXZ. Para tanto, foram realizados inúmeros ensaios variando-se o solvente (e.g., acetonitrila, metanol, água, acetona e etanol, e/ou suas misturas) e a temperatura de recristalização na tentativa de se obter formas polimórficas. Nas tentativas de obtenção de novos sais, a base livre da DXZ, obtida a partir do DXZM-H, foi dissolvida em soluções 1 mol.L<sup>-1</sup> de ácidos orgânicos ou minerais, e.g., clorídrico, fosfórico e maleico. A seguir são apresentadas as metodologias específicas dos casos exitosos.

#### 3.3.1 Obtenção da base livre da DXZ (DXZ-BL)

Para obter a base livre da DXZ (DXZ-BL), solubilizou-se à temperatura ambiente 270 mg DXZM-H em 15 mL de metanol. A solução foi sonicada durante 15 minutos e neutralizada (pH ~7) adicionando-se lentamente solução de NaOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Após filtração, o béquer contendo a solução foi vedado com parafilme ao qual foram feitos de 6 a 10 orifícios

de ~3mm por meio de uma agulha. Após dois dias, o material cristalino depositado no fundo do béquer foi separado da parte líquida por filtração. Alguns monocristais suficientemente bons para a análise de DRXM puderam ser separados da fase sólida formada. A amostra restante foi separada para sua caracterização e estudo físico-químico.

### ***3.3.2 Obtenção da forma A do DXZM (DXZM-A)***

25 mL de metanol foram adicionados a 250 mg de DXZM-H seguido de agitação sob aquecimento (40 °C) por 15 minutos. Após filtração para eliminar sólidos remanescentes, a solução foi deixada em repouso à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 3 dias, tempo necessário para evaporação de todo o solvente. O material recristalizado foi analisado por DRXP confirmando-se a obtenção do polimorfo A do DXZM, o qual foi usado para sua caracterização e estudo físico-químico. A fase sólida obtida não mostrou ter monocristais suficientemente aquedados para a DRXM. Tentativas de recristalização no sentido de obter monocristais não foram exitosas.

### ***3.3.3 Obtenção do DXZM diidratado (DXZM-dG)***

Foi preparada uma solução supersaturada de DXZM-H em 45 mL de metanol e 15 mL de água sob aquecimento a 60 °C. A solução foi filtrada e acondicionada em um dessecador à temperatura ambiente (25 °C) ao abrigo da luz por 3 dias. O precipitado formado foi filtrado em membrana filtrante sob vácuo e o material policristalino foi analisado por DRXP.

### ***3.3.4 Obtenção de potenciais novas formas sólidas da DXZ***

Na busca por polimorfos do DXZM, uma solução saturada de 20 mL do DXZM-H foi preparada em uma mistura de metanol e etanol (1:1, v:v). A solução foi filtrada e mantida à temperatura ambiente (25 °C) ao abrigo da luz por 6 dias. Um sólido policristalino foi obtido, o qual foi filtrado (filtro qualitativo), seco em dessecador e posteriormente analisado por DRXP.

Para a busca de novos sais da DXZ foram realizadas recristalizações utilizando diferentes ácidos. Duas recristalizações exitosas foram alcançadas usando-se ácidos clorídrico e fórmico, ambos na concentração 1 mol.L<sup>-1</sup>. Soluções saturadas de DXZ em 20 mL de cada

um dos ácidos foram preparadas. As soluções foram filtradas para eliminar resíduos sólidos e acondicionadas em um dessecador à temperatura ambiente (25 °C) ao abrigo da luz por 5 dias. O precipitado policristalino formado foi filtrado em membrana filtrante sob vácuo, seco em dessecador e posteriormente analisado por DRXP.

### 3.4 Obtenção das formas sólidas do FLU

Utilizou-se como material de partida para todas as recristalizações uma das matérias-primas do FLU disponível no Núcleo de Controle de Qualidade (NCQ/UNIFAL-MG) distribuída pela Gemini Ind. de Insumos.

#### 3.4.1 Recristalizações pelo método de evaporação lenta de solvente

A matéria-prima, a qual foi identificada nesse trabalho como uma mistura entre FLU-5 e FLU-H<sub>2</sub>O (*ver seção 5.2.3*), foi utilizada como material de partida das recristalizações. Em algumas delas este material foi previamente aquecido a fim de eliminar a água. Em todas as recristalizações dissolveu-se 10 mg do FLU no solvente, seguido de filtração para eliminar impurezas sólidas. Todas as recristalizações foram conduzidas a 25 °C, exceto a recristalização 1F em que a temperatura foi mantida a 7 °C. Detalhes das condições empregadas nas recristalizações pelo método de evaporação lenta de solvente são apresentados no Quadro 4.

Quadro 4 - Condições de recristalizações para obtenção de novas formas cristalinas do FLU: quantidade de solvente(s) e tempo de recristalização.

| Recristalização | Solvente (I)                                   | Solvente/co-formador (II) | Tempo de Cristalização |
|-----------------|--|---------------------------|------------------------|
| 1F              | metanol (10 mL)                                | -                         | 10 dias                |
| 2F              | HCl 1 mol.L <sup>-1</sup> (10 mL)              | -                         | 8 dias                 |
| 3F              | HNO <sub>3</sub> 1 mol.L <sup>-1</sup> (10 mL) | -                         | 3 dias                 |
| 4F              | acetonitrila (2,5 mL)*                         | Ác. maleico (2,5 mL))     | 12 dias                |
| 5F              | acetonitrila (2,5 mL) *                        | metanol (2,5 mL)          | 4 dias                 |
| 6F              | acetonitrila (5 mL) *                          | metanol(5 mL)             | 5 dias                 |
| 7F              | metanol(10 mL) *                               | -                         | 10 dias                |
| 8F              | metanol(10 mL)                                 | -                         | 10 dias                |

Fonte: Do autor.

Legenda: \*Pré-aquecida

### 3.4.2 Obtenção do FLU-H<sub>2</sub>O puro

O FLU-H<sub>2</sub>O foi obtido por meio de mecanoquímica empregando-se um moinho de bolas (Figura 12) no qual foram adicionados cerca de 300 mg da matéria-prima do FLU (mostrado ser uma mistura física FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O, *ver seção 5.2.4*) e 50 µL de água seguido de agitação por 30 minutos. O processo foi repetido para obtenção da quantidade de massa necessária do FLU-H<sub>2</sub>O para sua caracterização, estudo de transição de fase temperatura-dependente (*ver seção 3.9*) e estudo de solubilidade (*ver seção 3.11.2*).

Figura 12 - Moinho de bolas utilizado na recristalização do FLU-H<sub>2</sub>O por mecanoquímica.



Fonte: Do autor.

### 3.4.3 Obtenção do FLU-5 puro

Cerca de 300 mg do FLU.H<sub>2</sub>O obtido por meio do experimento descrito em 3.4.2 foi aquecido por 2h a 115 °C (temperatura suficiente para desidratar a fase hidratada, mas não para fundir o FLU) e depois retornada à temperatura ambiente em dessecador. Maiores detalhes *na seção 3.9*. O processo foi repetido para obtenção da quantidade de massa necessária do FLU-5 para sua caracterização e estudo de solubilidade (*ver seção 3.11.2*).

#### 3.4.4 Obtenção do FLU-amorfo

Cerca de 300 mg do FLU.H<sub>2</sub>O obtido por meio do experimento descrito em 3.4.2 foi aquecido inicialmente por 2h a 115 °C (temperatura suficiente para desidratar a fase hidratada, mas não para fundir o FLU) e na sequência a temperatura foi elevada para 150 °C (temperatura suficiente para fundir, mas não para decompor o FLU). Na sequência a amostra retornada à temperatura ambiente em dessecador. Maiores detalhes *na seção 3.9*. O processo foi repetido para obtenção da quantidade de massa necessária do FLU-amorfo para sua caracterização e estudo de solubilidade (*ver seção 3.11.2*) e cinética de transição de fase (*ver seção 3.10*).

#### 3.5 Análises de difração de raios X por monocristal (DRXM)

O experimento de DRXM para o monocristal da DXZ-BL foi realizado a baixa temperatura (150 K) em um difratômetro Oxford Diffraction GEMINI (Oxford Diffraction, Blacksburg, VA, EUA) equipado com um detector Atlas CCD e dupla fonte de raios X, molibdênio e cobre. Foi utilizado para a medida, o tubo molibdênio ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) sendo o feixe de raios X monocromatizado por cristal de grafite. Os programas CrysAlis CCD e CrysAlis RED (CRYNALIS Pro 1.7, 2006) foram utilizados para coleta de dados, refinamento de celas, redução de dados e correção da absorção (método *multi-scan*). A estrutura foi resolvida (métodos diretos) e refinada (mínimos quadrados de matriz completa em  $F^2$ ) utilizando-se os *softwares* SHELXS-2018/3 e SHELXL-2018/3, respectivamente (SHELDRICK, 2015). Todos os átomos não-hidrogenoides foram encontrados a partir do mapa de densidade eletrônica oriundo da síntese de Fourier e refinados com parâmetros térmicos anisotrópicos. Os átomos de hidrogênio ligados a carbonos e nitrogênio foram posicionados estereoquimicamente com comprimentos de ligação C-H (ou N-H) fixados em 0,88, 0,95, 0,98, 0,99 e 1,00 Å para os grupos aminos, aromáticos, metílico, metileno e metino, respectivamente. Os parâmetros térmicos isotrópicos de todos os hidrogênios foram atrelados aos deslocamentos térmicos isotrópicos equivalentes dos átomos ligados a eles [Uiso (H) = 1,2Ueq (N-amino, C-aromático, C-metileno, C-metino) ou 1,5Ueq (C-metilo)]. Uma desordem envolvendo a posição dos átomos C16 e C23 pode estar presente, mas não suficientemente pronunciada para demandar seu refinamento. O software WinGX (FARRUGIA, 1999) foi usado para tratar os dados cristalográficos e gerar tabelas

crystalográficas. Os softwares MERCURY (MACRAE, et al., 2008) e ORTEP-3 (FARRUGIA, 1997) foram utilizados para as análises cristalográficas e representações em figuras. Os principais dados do cristal, coleta e refinamento da estrutura estão mostrados na Tabela 2. O arquivo CCDC 1864608 contém os dados cristalográficos suplementares para este trabalho. Os dados podem ser obtidos no *Cambridge Crystallographic Data Center* via [www.ccdc.cam.ac.uk/getstructures](http://www.ccdc.cam.ac.uk/getstructures).

Tabela 2 - Dados cristalográficos e refinamento da estrutura da DXZ-BL.

|   |  |
|---|--|
| Fórmula Empírica                          | C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>  |
| Massa molecular                           | 451,48   |
| Temperatura                               | -123 °C (2)  |
| Comprimento de onda                       | 0,71073 Å  |
| Sistema cristalino                        | Triclínico   |
| Grupo de espaço                           | P $\bar{1}$  |
| Dimensões da cela unitária                | $a = 9,1195(6)$ Å, $\alpha = 77,602(6)^\circ$<br>$b = 10,8523(8)$ Å, $\beta = 73,020(6)^\circ$<br>$c = 11,8368(8)$ Å, $\gamma = 78,865(6)^\circ$ |
| Volume                                    | 1083,45(14) Å <sup>3</sup>   |
| Z   | 2  |
| Densidade (calculada)                     | 1,384 Mg/m <sup>3</sup>  |
| Coefficiente de absorção                  | 0,100 mm <sup>-1</sup>   |
| F(000)                                    | 476  |
| Tamanho do cristal                        | 0,02 x 0,12 x 0,25 mm <sup>3</sup>   |
| $\theta_{\min}$ - $\theta_{\max}$         | 1,940-25,004°  |
| Faixas de indexação                       | -10<=h<=10, -12<=k<=12, -14<=l<=14   |
| Reflexões coletadas                       | 11697  |
| Reflexões independentes                   | 3804 [R(interno) = 0,0453]   |
| Integralidade até $\theta_{\max}$         | 100,0 %  |
| Método de refinamento                     | Mínimos quadrados de matriz completa em F <sup>2</sup>   |
| Dados/restrições/parâmetros               | 3804 / 0 / 300   |
| Qualidade do ajuste em F <sup>2</sup> (S) | 1,032  |
| Índices R (I>2 $\sigma$ (I))              | R1 = 0,0511, wR2 = 0,1132  |
| Índices R (todos os dados)                | R1 = 0,0930, wR2 = 0,1410  |
| Resíduos de densidade eletrônica          | 0,370 e -0,224 e Å <sup>-3</sup>   |

Fonte: Do autor.

Legenda: F = fator de estrutura; F(000) = total de elétrons da cela unitária; Z = número de moléculas na cela unitária; R(interno) = calculado da média das reflexões dependentes por simetria; I>2 $\sigma$ (I) = somente as

reflexões com intensidade maior que 2 vezes o seu desvio padrão;  $F^2$  = Fator de estrutura ao quadrado. Em que:

$$R = \frac{\sum \|F_{obs} - F_{calc}\|}{\sum |F_{obs}|} \quad wR = \left\{ \frac{\sum w(F_{obs}^2 - F_{calc}^2)^2}{\sum w(F_{obs}^2)^2} \right\}^{1/2} \quad S = \left\{ \frac{\sum w(F_{obs}^2 - F_{calc}^2)^2}{(N - P)} \right\}^{1/2}$$

### 3.6 Análises de difração de raios X por pó (DRXP)

As condições de medidas de DRXP usadas para o estudo da DXZ e do FLU são descritas a seguir.

#### 3.6.1 Análises de DRXP para a DXZ

Os dados de DRXP foram coletados à temperatura ambiente (293 K) usando um difratômetro Ultima IV (Rigaku, Tóquio, Japão) com geometria  $\theta - 2\theta$ . A radiação Cu  $K\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) foi gerada usando um tubo selado a 40 kV e 30 mA. Os dados foram coletados na faixa angular de 3 a  $35^\circ 2\theta$  com velocidade de varredura de  $1^\circ 2\theta \cdot \text{min}^{-1}$ . As amostras foram finamente moídas e montadas em uma lâmina de vidro sulcada empregada como porta amostras. Os padrões experimentais de DRXP foram comparados aos padrões calculados e gerados por meio do *software* MERCURY (MACRAE, et al., 2008) das estruturas cristalinas determinadas para o DXZM-A (código CCDC: ULIYET) (CHERNYSHEV, et al., 2003) e DXZ-BL (determinada neste trabalho). Os padrões de DRXP calculados da estrutura cristalina do mesilato de doxazosina diidratado (DXZM-dG, seguindo a denominação da literatura) também foram utilizados nas comparações (código CCDC: ULIYIX) (CHERNYSHEV, et al., 2003). O padrão de DRXP da DXZ-BL calculado a partir da estrutura cristalina determinada à baixa temperatura ( $-123 \text{ }^\circ\text{C}$ , ver Tabela 2) mostrou-se ligeiramente deslocado para maiores ângulos em relação aos padrões de DRXP experimentais realizados à temperatura ambiente (293 K). Como a estrutura cristalina do DXZM-H é desconhecida, os dados experimentais para DXZM-H foram comparados com os experimentais de trabalhos anteriores (GRCMAN, et al., 2002).

### 3.6.2 Análises de DRXP para o FLU

As análises de DRXP foram conduzidas para caracterizar os insumos e os medicamentos de FLU (3.1.2), bem como os materiais policristalinos obtidos durante a execução desta tese. Por questões de acessibilidade ao longo dos quatro anos de execução dos experimentos dessa tese, os dados de DRXP foram coletados em dois equipamentos distintos:

- a) difratômetro Rigaku-Ultima IV com tubo de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) e monocromador de grafite. Condições de medida: porta-amostras do tipo lâmina de vidro sulcada; voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA; varredura modo *step scan*; passo de  $0,02^\circ$  entre  $3$  a  $35^\circ 2\theta$ ; 1 segundo de exposição por ponto;
- b) difratômetro Bruker D2 Phaser com tubo de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ): Condições de medida: porta-amostras do tipo *back loading*; voltagem de 30 kV e corrente de 10 mA; varredura modo *step scan*; passo de  $0,02^\circ$  entre  $4$  a  $40^\circ 2\theta$ ; 2 segundos de exposição por ponto.

Os padrões experimentais de DRXP foram comparados (superposição) com aqueles calculados importando as estruturas cristalinas determinadas para o FLU e depositadas no CSD para a identificação das fases formadas ou inferência de seu ineditismo.

### 3.7 Análises Térmicas (DSC e TG-DTA)

As condições de medidas de DSC e TG-DTA usadas para o estudo da DXZ e do FLU são descritas a seguir.

#### 3.7.1 Análises de DSC e TG-DTA para a DXZ

As curvas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram obtidas em um DSC Q20 V24.11 Build 124 (TA Instruments, New Castle, EUA) sob uma atmosfera dinâmica de nitrogênio ( $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) com um fluxo de calor de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  de  $35$  a  $500 \text{ }^\circ\text{C}$  usando cadinhos de alumínio abertos com aproximadamente  $2 \text{ mg}$  de amostra. O instrumento foi calibrado com padrão do metal índio. As curvas de análise termogravimétrica (TG-DTA) foram obtidas em um SDT Q600 V20.9 Build 20 (TA Instruments, New Castle, EUA) usando cadinhos de alumina abertos, uma taxa de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  de  $35$  a  $500 \text{ }^\circ\text{C}$ , fluxo de nitrogênio de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e aproximadamente  $12 \text{ mg}$  de amostra.

### 3.7.2 Análises de DSC e TG-DTA para o FLU

As curvas DSC foram coletadas nos equipamentos DSC 3500 (NETZSCH-Gerätebau GmbH Wittelsbacherstraße 95100 lb Germany) e DSC Q20 V24.11 Build 124 (TA Instruments, New Castle, EUA). A razão de aquecimento foi de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  entre 30 e  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sob atmosfera de nitrogênio ( $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Utilizou-se aproximadamente 5,00 mg de amostra em cadinhos de alumínio aberto.

As curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas em uma termo-balança modelo SDT Q600 V20.9 Build 20 (TA Instruments, New Castle, EUA), na razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , na faixa de temperatura de 40 a  $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Utilizou-se atmosfera de nitrogênio a  $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Foi utilizada a massa de  $\sim 5,00\text{ mg}$  de cada amostra, acondicionadas em cadinhos de alumina abertos.

### 3.7.3 Análises de DSC cíclico iniciando com a forma FLU.H<sub>2</sub>O

Um estudo de DSC cíclico utilizando o equipamento DSC Q20 V24.11 Build 124 (TA Instruments, New Castle, EUA) foi realizado para a amostra FLU-H<sub>2</sub>O ( $\sim 8,00\text{ mg}$  de amostra). A razão de aquecimento foi de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  entre 25 e  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sob atmosfera de nitrogênio ( $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ). A razão de resfriamento foi de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  entre 180 e  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  sob atmosfera de nitrogênio ( $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) e fluxo de nitrogênio líquido sob pressão de 10 kPa. O protocolo de aquecimento e resfriamento está descrito no Quadro 5.

Quadro 5 - Protocolos de aquecimento/resfriamento no estudo de DSC cíclico.

| Ciclo | Temperatura inicial ( $^{\circ}\text{C}$ ) | Temperatura final ( $^{\circ}\text{C}$ ) |
|-------|--|--|
| 1º    | 25   | 180                                      |
| 2º    | 180  | 25                                       |
| 3º    | 25   | 180                                      |
| 4º    | 180  | 25                                       |
| 5º    | 25   | 180                                      |

Fonte: Do autor.

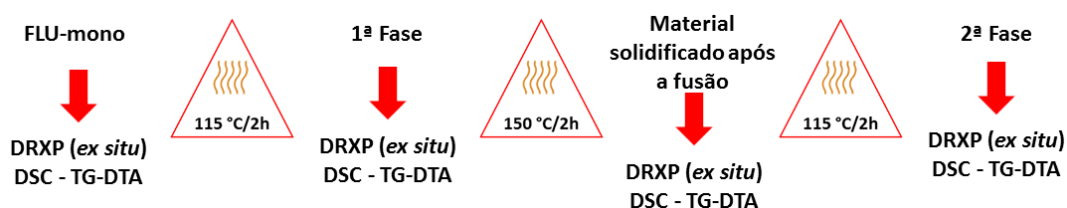
### 3.8 Análises por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

As análises de IV foram realizadas somente para o IFA FLU. Utilizou-se um espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier da marca Shimadzu, modelo Affinity-1, acoplado a um acessório de refletância total atenuada da marca Pike Miracle. Os dados foram coletados a temperatura ambiente, na região do infravermelho entre 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ , sendo que as amostras não necessitam de preparo inicial.

### 3.9 Transições de fase: desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e solidificação do FLU fundido.

Um estudo térmico usando o FLU-H<sub>2</sub>O como material de partida foi realizado utilizando-se a estufa da marca Memmert, modelo UF 55 Plus. O protocolo de aquecimento para este estudo foi planejado levando em consideração os estudos prévios de TG-DSC (CAIRA et al., 2004; DESAI, et. al., 2003). Um primeiro experimento envolveu o aquecimento, por 2h, de 300 mg de FLU-H<sub>2</sub>O a 115 °C (temperatura suficiente para desidratar a fase hidratada, mas não para fundir o FLU). Na sequência a amostra foi mantida em dessecador até atingir a temperatura ambiente e alíquotas foram analisadas por DRXP, DSC e TG-DTA. Uma alíquota de 200 mg do experimento anterior foi reaquecida e mantida por 2h a 150 °C (temperatura suficiente para fundir, mas não para decompor o FLU). Novamente a amostra foi caracterizada por DRXP, DSC e TG-DTA após atingir a temperatura ambiente em dessecador. Por fim, uma alíquota do segundo aquecimento foi reaquecida e mantida por 2h a 115 °C (com a intenção de provocar a cristalização da fase amorfa obtida no aquecimento anterior) sendo na sequência novamente caracterizada após resfriamento. A Figura 13 é uma representação esquemática do protocolo aqui descrito.

Figura 13 - Protocolo de caracterizações (quatro) e aquecimentos (três) partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O. As setas largas verticais ilustram as caracterizações por DRXP, DSC e TG-DTA feitas depois de as amostras serem retornadas a temperatura ambiente.



Fonte: Do autor.

### 3.10 Cinética de cristalização a partir do sólido amorfo obtido a partir da solidificação do FLU fundido.

O FLU-H<sub>2</sub>O foi levado até a fusão (aquecimento a 150 °C durante 2h) e depois deixado atingir naturalmente a temperatura ambiente dentro de dessecador. Em seguida, uma alíquota da amostra foi montada na lâmina de vidro sulcada empregada como porta-amostras do equipamento de DRXP (equipamento Rigaku-Ultima IV) sendo feitas varreduras no difratômetro no intervalo 2θ de 3 a 35 ° (tempo de cada varredura igual a 60 minutos), inicialmente a cada 60 minutos nas primeiras 24h, e partir daí a cada 24 horas até completar 4 dias.

### 3.11 Estudos de solubilidade em equilíbrio

Foram conduzidos estudos de solubilidade em equilíbrio empregando a técnica do *shake-flask* para os dois IFA em estudo. Utilizou-se de um *Shaker* com aquecimento modelo MA 830/A (MARCONI®). Os estudos de solubilidade foram realizados na faixa de pH fisiológico de acordo com a RDC-31 da ANVISA (BRASIL, 2010) e nota técnica nº 003/2013 / CEFAR / GTFAR / GGMED / ANVISA (BRASIL, 2013).

#### 3.11.1 Estudos de solubilidade em equilíbrio para a DXZ

Os estudos de solubilidade comparando a DXZ-BL e dois polimorfos do DXZM (forma H e A) foram realizados utilizando-se de cinco meios diferentes: água deionizada (H<sub>2</sub>O), HCl 0,01 mol.L<sup>-1</sup>, tampão fosfato pH 4,5 (TF 4,5), tampão fosfato 0,054 mol.L<sup>-1</sup> pH 5,8 (TF 5,8) e tampão fosfato 0,050 mol.L<sup>-1</sup> pH 7,2 (TF 7,2).

Após a tamisação (malha 150 *mesh*), as amostras foram adicionadas em frascos de 10 mL contendo 3 mL do meio em estudo (triplicata). Os frascos foram agitados em *vortex* até que se formasse um corpo de fundo. Após 24h de agitação a 150 rpm à 37(1) °C, o sobrenadante dos meios em estudo teve seus pHs medidos (pH<sub>final</sub>) sendo em seguida filtrados em filtros de membrana 0,45 µm (Milipore®). Os filtrados provenientes das formas A e H do DXZM foram diluídos por um fator de 250 (de 100 µL para 25 mL<sup>-1</sup>). Os filtrados provenientes da DXZ-BL foram diluídos por um fator de 10 (de 500 µL para 5 mL<sup>-1</sup>), exceto para o meio TF 4,5 que teve diluição de 100 (de 100 µL para 10 mL<sup>-1</sup>). Em seguida, a

concentração de DXZ foi dosada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de acordo com o método descrito na monografia da DXZ na farmacopeia americana (USP): coluna cromatográfica 4,6mm X 25cm X 5  $\mu\text{m}$  – L1, temperatura da coluna 40 °C, comprimento de onda de 245 nm, fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup> e injeção de 20  $\mu\text{L}$  da amostra (USP 40, 2017). Os materiais sólidos residuais (corpo de fundo) foram analisados por DRXP para avaliar se houve transições de fase do sólido em excesso durante o estabelecimento do equilíbrio com a solução.

### 3.11.2 Estudos de solubilidade em equilíbrio para o FLU

As formas sólidas que tiveram as solubilidades comparadas foram: matéria-prima (identificada como mistura de fases entre o FLU-H<sub>2</sub>O e FLU-5), FLU-H<sub>2</sub>O (obtida por mecanoquímica a partir da matéria-prima), FLU-5 (obtida a partir da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O) e FLU-amorfo (obtido a partir da solidificação do FLU fundido).

Neste estudo foram empregados cinco diferentes meios: água deionizada (H<sub>2</sub>O), ácido clorídrico 0,1 mol.L<sup>-1</sup> (HCl 0,1 M), tampão acetato 0,050 mol.L<sup>-1</sup> pH 4,5 (TA 4,5), tampão fosfato 0,054 mol.L<sup>-1</sup> pH 5,8 (TF 5,8) e tampão fosfato 0,050 mol.L<sup>-1</sup> pH 7,2 (TF 7,2).

Após tamisação (malha 150 *mesh*) as formas sólidas foram adicionadas em frascos de 10 mL contendo 3 mL do meio em estudo (triplicata) seguido de agitação em *vortex* até formação de corpo de fundo. Os frascos foram então acoplados ao *shaker* ficando durante 12h ou 24h sob agitação a 150 rpm a uma temperatura de 37 (+/-1) °C. Após o tempo de agitação, os pH dos sobrenadantes foram medidos e em seguida as soluções foram filtradas em filtros de membrana 0,45  $\mu\text{m}$  (Milipore®) e diluídas de acordo com o Quadro 6.

Quadro 6 - Diluições das amostras do estudo de solubilidade das formas sólidas do FLU.

|           | FLU-H <sub>2</sub> O | FLU-5          | Amorfo         | MP-FLU         |
|-----------|----------------------|----------------|----------------|----------------|
| Água      | 0,8 mL x 25 mL       | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL |
| HCl 0,1 M | 0,4 mL x 25 mL       | 0,2 mL x 25 mL | 0,2 mL x 25 mL | 0,3 mL x 25 mL |
| TA 4,5    | 0,8 mL x 25 mL       | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL |
| TF 5,8    | 0,8 mL x 25 mL       | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL |
| TF 7,2    | 0,8 mL x 25 mL       | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL | 0,8 mL x 25 mL |

Fonte: Do autor.

Na sequência, a concentração de FLU em cada solução foi dosada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), de acordo com o método descrito na monografia do FLU na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, método de doseamento B (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Foi empregado uma coluna cromatográfica (4,6mm X 15cm X 5 µm – L1, temperatura da coluna 30 °C, comprimento de onda de 260 nm, fluxo de 0,8 mL.min<sup>-1</sup> e injeção de 20 µL da amostra) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). A fase móvel consistiu em uma mistura de água e acetonitrila (78:22, v:v). A curva de calibração (reta) com pontos em 10, 100, 250, 500 e 750 µg.mL<sup>-1</sup> de FLU mostrou um R<sup>2</sup> de 0,9998.

Os materiais sólidos residuais (corpo de fundo) foram analisados por DRXP para avaliar as possíveis transições de fase para as formas sólidas em estudo.

### *3.12 Estudos de estabilidade do IFA de FLU e do medicamento em cápsulas duras de 150 mg*

Foram conduzidos estudos de estabilidade em zona IV-b (30 °C ±2 °C/75 %UR ±5 %UR) para o IFA e para o produto acabado (cápsulas duras de 150 mg, medicamento genérico), afim de avaliar a forma sólida presente nos mesmos. Para o IFA, foram avaliados 2 lotes do fabricante B por 12 meses. Para o produto acabado, foi conduzido o mesmo estudo do IFA, entretanto, foi avaliado apenas 1 lote por 24 meses. Após a exposição do IFA e do produto acabado às condições de estabilidade mencionadas anteriormente, as amostras foram avaliadas por DRXP.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por uma questão de organização, resultados e discussão desta tese foram divididos em duas partes cada qual abordando um IFA.

### 4.1 Parte I - DXZ

A primeira parte dos resultados e discussão é referente ao IFA DXZ.

#### 4.1.1 Formas cristalinas obtidas e outros estudos realizados

O Quadro 7 mostra alguns experimentos realizados durante o desenvolvimento deste trabalho e os resultados obtidos.

Quadro 7 - Recristalizações/estudos realizados para as formas sólidas de DXZ e os resultados obtidos.

| RECRISTALIZAÇÕES/ESTUDOS REALIZADOS                                       | Meta   |
|---|--|
| Resultados Apresentados Nessa Tese  |  |
| Obter monocristais da DXZ-BL  | <b>Atingida</b>  |
| Obter policristais da DXZ-BL  | <b>Atingida</b>  |
| Obter policristais do DXZM-A  | <b>Atingida</b>  |
| Obter policristais do DXZM-dG   | <b>Atingida</b>  |
| Determinação da estrutura da DXZ-BL                                       | <b>Atingida</b>  |
| Estudo de solubilidade em equilíbrio das formas obtidas                   | <b>Atingida</b>  |
| Resultados Não Apresentados Nessa Tese                                    |  |
|   | <b>Parcialmente Atingida</b>   |
|   | Os padrões de DRXP dos materiais policristalino obtidos da adição de HCl e ácido fórmico à DXZ-BL sugerem que novas fases cristalinas que potencialmente podem ser o cloridrato de DXZ e formiato de DXZ foram obtidas. Infelizmente monocristais adequados para experimentos de DRXM não foram obtidos de maneira a determinar as estruturas e confirmar a obtenção desses sais. Estudos futuros serão realizados com essas amostras. |
| Obter policristais e monocristal de outras formas multicomponentes da DXZ |  |
|   | <b>Parcialmente Atingida</b>   |
| Determinação estrutural da DXZM-H por DRXP                                | Chegou-se a um modelo que se ajusta bem aos dados experimentais. Contudo, uma medida em um equipamento DRXP de alta resolução é necessária para atingir essa meta.   |

Fonte: Do autor.

#### **4.1.2 Determinação da estrutura cristalina da DXZ-BL e sua solubilidade em equilíbrio comparada aos polimorfos do DXZM A e H.**

Os resultados apresentados nessa sessão foram traduzidos do item Resultados e Discussão do artigo publicado no periódico científico Cryst. Growth Des. 2019, 19, 737–746, DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01323, o qual é apresentado na íntegra em sua versão original em inglês no Anexo I dessa tese.

##### **4.1.2.1 Estrutura cristalina da doxazosina base livre (DXZ-BL)**

A Figura 14 mostra uma representação ORTEP da estrutura da DXZ-BL. Nela pode-se notar que o átomo de nitrogênio (N1) está desprotonado, o que é suportado pelos mapas de diferença de Fourier e consistente à DXZ-BL pretendida. Como esperado, o anel quinazolínico, incluindo os átomos O1, O2, N3 e N4 tem alta planaridade. O desvio da raiz quadrática média (d.r.q.m) de um plano calculado considerando os átomos do anel quinazolínico é de 0,0160. O maior desvio do plano calculado, considerando também os primeiros átomos vizinhos ligados ao anel quinazolínico, ocorre para N4 (-0.112 (3) Å). Considerando os átomos de carbono dos grupos metoxila, C10 é coplanar ao plano do anel quinazolínico (desvio de apenas -0,090 (5) Å), enquanto o C9 desvia-se significativamente do mesmo (1,125 (4) Å). Essa diferença também pode ser ilustrada pelos respectivos ângulos de torção (C6–C5–O2–C10 = 1,5(4)° e C3–C4–O1–C9 = 106,9(3)°). Essa geometria molecular difere das formas DXZM-A e DXZM-dG, que têm as duas metoxilas coplanares ao anel quinazolínico (CHERNYSHEV, et al., 2003).

O anel piperazínico da DXZ-BL tem uma conformação clássica de cadeira, o que foi confirmado pela análise conformacional de Evans e Boeyens (EVANS; BOEYENS, 1989). As ligações N4–C1, N5–C15, C11–H11a, C12–H12a, C13–H13b e C14–H17b estão nas posições equatoriais, enquanto as ligações restantes do anel piperazínico são axiais. Chernyshev et al. (CHERNYSHEV, et al., 2003) enfatizaram que as principais diferenças conformacionais comparando as estruturas DXZM-A e DXZM-dG estão associadas aos anéis piperazínicos, argumentando que o anel piperazínico do DXZM-dG tem uma conformação clássica de cadeira e o da DXZM-A uma conformação de cadeira distorcida. Os átomos de C16 e C23 da DXZ-BL desviam-se de 0,462(3) e -0,261 (3) Å, respectivamente do plano

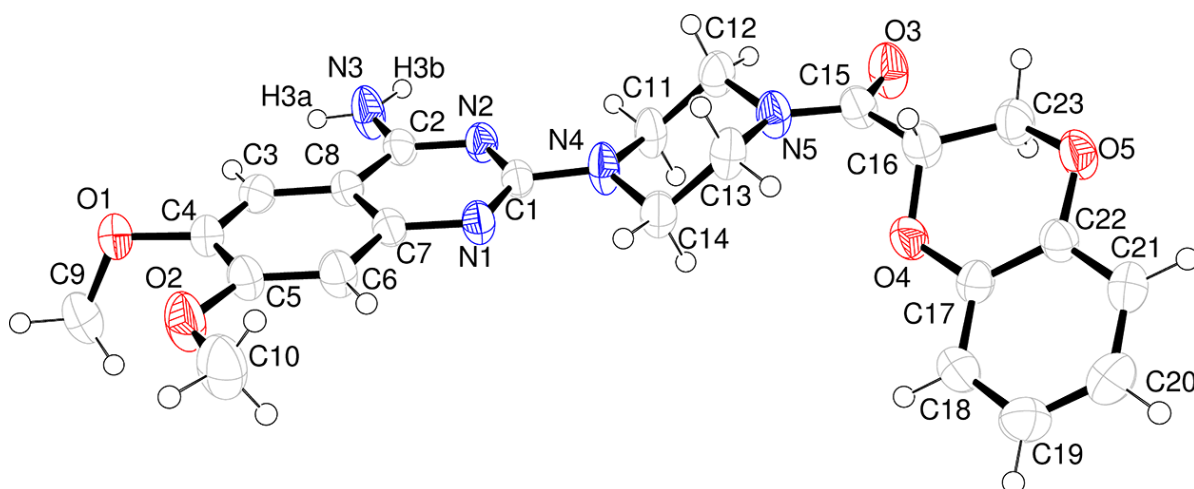
calculado (d.r.q.m = 0,0146), considerando a fração aromática e os átomos de oxigênio do anel benzodioxano. A distorção do anel dioxínico foi confirmada pela análise conformacional de Evans e Boeyens (EVANS; BOEYENS, 1989) que mostrou que as ligações C16–C15, C22–C21, C17–C18 e C23–H23b estão posicionadas de maneira equatorial enquanto as ligações C16–H16 e C23–H23a são axiais.

Antes de comparar a estrutura intramolecular da DXZ-BL com as da DXZM-A e DXZM-*dG*, que são cristalizadas respectivamente nos grupos espaciais  $P\bar{1}$ ,  $C2/c$  e  $P2_1/c$ , é importante enfatizar que todos são cristais racêmicos, pois a DXZ é uma molécula quiral (C16 é carbono assimétrico) cristalizada em grupos de espaços centrossimétricos. Ou seja, seus cristais contêm uma mistura equimolecular dos enantiômeros R e S da DXZ.

A Figura 15 mostra a sobreposição do esqueleto molecular da DXZ-BL às duas formas do mesilato conhecidas, tomando arbitrariamente os seus respectivos enantiômeros S. Observa-se que a geometria intermolecular da DXZ-BL é mais semelhante ao DXZM-*dG*.

O cálculo de sobreposição das moléculas (MACRAE, et al., 2008) considerando todos os átomos homólogos da DXZ-BL e da DXZM-*dG* resulta em um d.r.q.m de 0,5078. A distância máxima entre átomos homólogos é de 1,761 Å, observado para os homólogos C19 como consequência de sua não-coplanaridade ao anel de quinazolina na DXZ-BL, diferentemente do que é observado para a DXZM-*dG*. Por outro lado, a porção quinazolina do DXZM-A está rotacionado em  $\sim 180^\circ$  em torno da ligação C1-N4 comparado às formas DXZ-BL e DXZM-*dG*. Portanto, DXZ-BL e DXZM-*dG* têm suas respectivas ligações C15-O3 *syn* posicionadas em relação às ligações C2–N3, enquanto para DXZM-A essas ligações estão posicionadas em *anti*. Considerando somente os anéis piperazínicos e benzodioxanos, observa-se uma boa equivalência intramolecular das três estruturas (Figura 15).

Figura 14 - Representação ORTEP da DXZ-BL com identificação arbitrária dos átomos não-hidrogenoides. Os átomos de H são representados como esferas de raio arbitrário e os elipsoides dos átomos não-H a 50% de probabilidade.



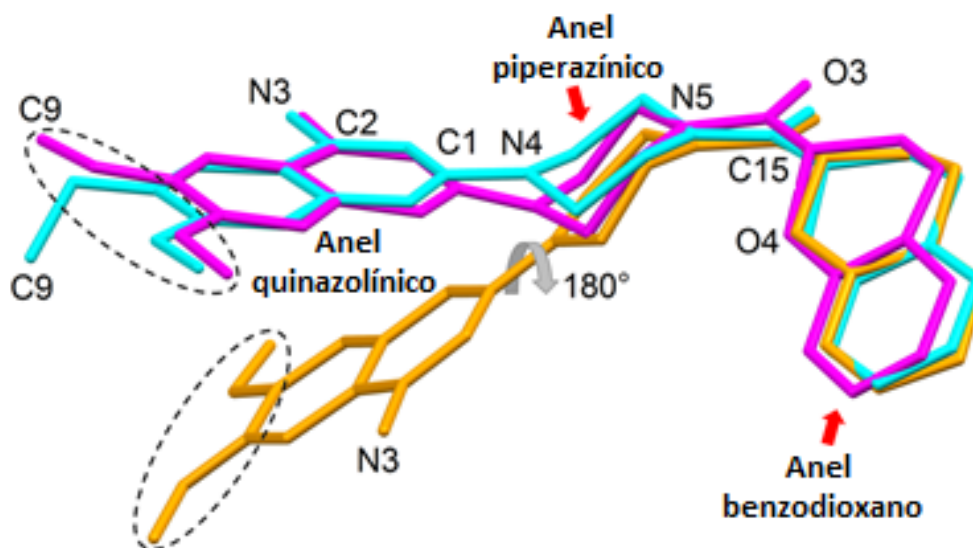
Fonte: Do autor.

A coincidência dos anéis piperazínico e benzodioxano das estruturas DXZM-*dG* e DXZM-A mostrada na Figura 15 está em desacordo com a discussão de Chernyshev et al. (CHERNYSHEV, et al., 2003), em que é destacado que essas duas formas diferem entre si pela rotação relativa de 180° de seus respectivos grupamentos carboxamida em torno da ligação N5–C15. Essa conclusão equivocada foi provavelmente considerada por esses autores, devido à escolha de enantiômeros opostos como unidades assimétricas do DXZM-*dG* (o arquivo ULIYIX CIF contém o isômero S) e DXZM-A (o arquivo ULIYET CIF contém o isômero R) para permitir a coincidência de seus respectivos grupamentos quinazolinás. A estrutura intramolecular da DXZ-BL pode também ser comparada com a estrutura de um análogo da DXZ, o cloridrato monohidrato de 6,7-dimetoxi-4-dimetilamino-2- (4- (1,4-benzodioxano-2-carbonil) piperazin-1-il) quinazolina, que também é um cristal racêmico. Diferentemente da DXZ-BL e das formas conhecidas de mesilato, o análogo 4-dimetilamino mostra o átomo O4 do anel de dioxina na posição *cis* em relação à carbonila C15-O3 (Figura 16).

Portanto, neste caso, é realmente observada uma rotação do anel benzodioxano em torno da ligação N15-C16 quando a DXZ-BL (e DXZM-*dG* ou DXZM-A) são comparados ao análogo 4-dimetilamino. Como consequência dessa rotação, as estruturas sobrepostas são, evidentemente, enantiômeros opostos (S + R como na Figura 16 ou R + S). Outra característica estrutural observada é a coplanaridade dos átomos de carbono das duas

metoxilas da estrutura do análogo 4-dimetilamino com o anel quinazolínico, como observado para as formas de mesilato (DXZM-A e DXZM-*dG*), mas não para DXZ- BL.

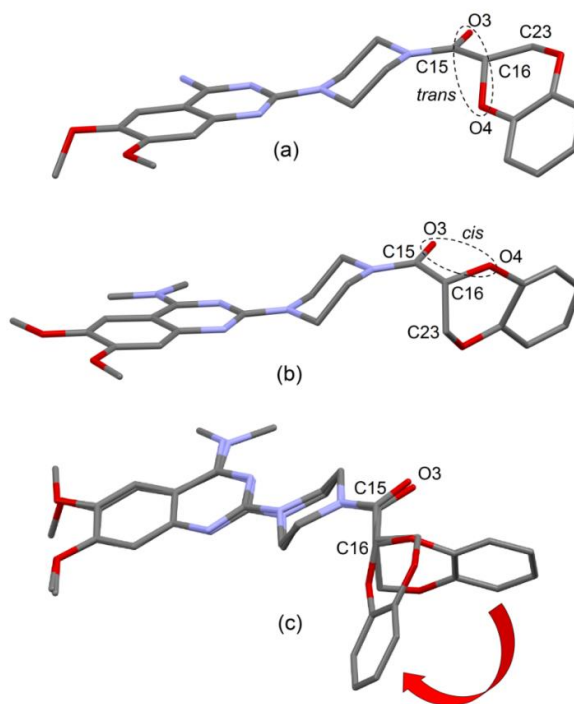
Figura 15 - Sobreposição dos esqueletos da DXZ-BL (ciano), DXZM-*dG* (magenta) e DXZM-A (laranja). As estruturas da DXZ-BL e DXZM-*dG* foram sobrepostas, considerando todos os átomos homólogos não-hidrogenoides usando o *software* MERCURY, sem forçar a flexibilidade e a inversão das moléculas. As estruturas de DXZ-BL e DXZM-A foram sobrepostas sem considerar os átomos homólogos do fragmento quinazolina das estruturas. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza. Círculos pretos tracejados destacam a planaridade ou não das metoxilas.



Fonte: Do autor.

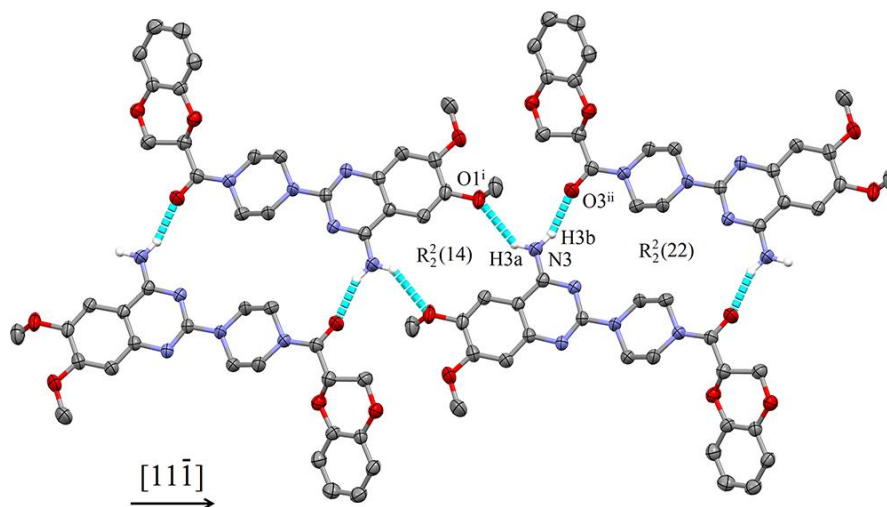
Considerando o empacotamento da DXZ-BL, ligações de hidrogênio (H) intermoleculares fortes ( $N3-H3b \cdots O3^{ii}$ ) estabilizam um dímero supramolecular (*sintons*) contendo moléculas relacionadas por simetria de inversão (Figura 17 e Tabela 3). O empacotamento dos *sintons* ao longo da direção  $[11\bar{1}]$  (por translação) dá origem a uma cadeia dupla centrossimétrica estabilizada por uma ligação de H adicional ( $N3 - H3a \cdots O1^i$ ), envolvendo o segundo átomo de hidrogênio do grupo amino tendo o grupo metoxílico como acceptor (Figura 17 e Tabela 3). O conjunto gráfico (BERNSTEIN, et al., 1995) do padrão de ligação de H observado é o do tipo  $R_2^2(22)$  e  $R_2^2(14)$  (Figura 17).

Figura 16 - Esqueletos moleculares da DXZ-BL (a) e do análogo 4-dimetilamino DXZ (b) mostram o isomerismo *cis-trans* envolvendo os átomos O3 e O4. Em (c) os dois esqueletos são sobrepostos destacando que as duas estruturas diferem pela rotação de seus anéis de benzodioxano ao redor da ligação N15–C16. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza. Círculos pretos tracejados destacam os diferentes isômeros.



Fonte: Do autor.

Figura 17 - Representação do empacotamento parcial da DXZ-BL vista normal ao plano  $(-121)$  (direções horizontal e vertical paralelas às direções cristalográficas  $[11\bar{1}]$  e  $[101]$ , respectivamente) mostrando o padrão de ligação H que estabilizam uma rede unidimensional infinita (cadeias duplas) ao longo da direção  $[11\bar{1}]$ . Ligações de H representadas pelas linhas tracejadas em ciano. Os átomos de H não envolvidos nas ligações foram omitidos para melhor clareza. Códigos de simetria:  $^i -x+2, -y+2, -z-1$ ;  $^{ii} -x+1, -y+1, -z$ .



Fonte: Do autor.

Tabela 3 - Ligações de H para a DXZ-BL (Å e °), em que D = doador e A = acceptor.

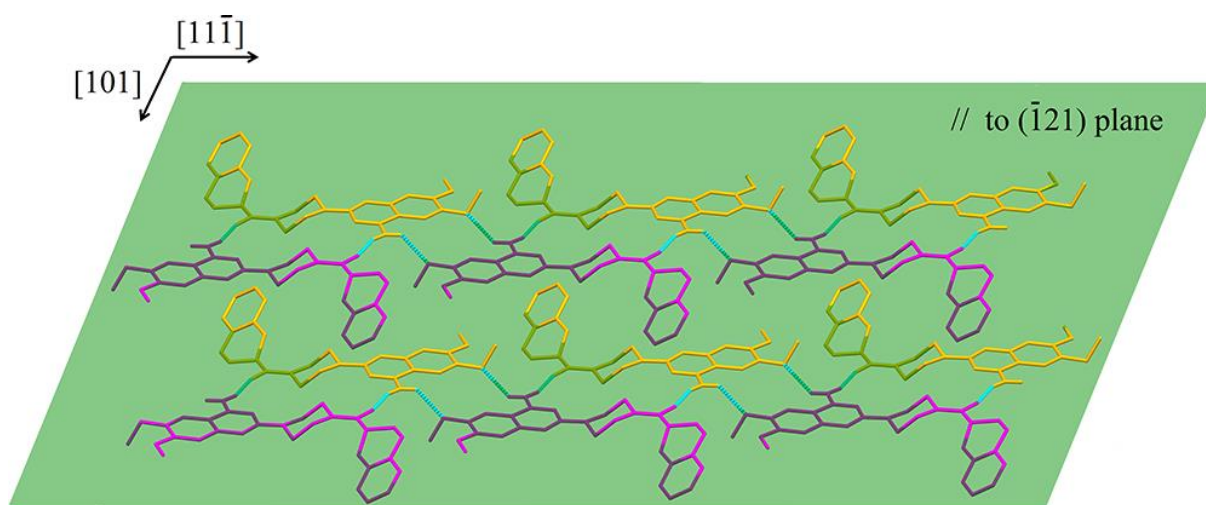
| D-H...A                      | d(D-H) | d(H...A) | d(D...A) | <(D-H-A) |
|------------------------------|--------|----------|----------|----------|
| N3-H3a...O1 <sup>i</sup>     | 0,88   | 2,36     | 3,103(3) | 142,5    |
| N3-H3b...O3 <sup>ii</sup>    | 0,88   | 2,04     | 2,876(3) | 157,5    |
| C23-H23b...O1 <sup>iii</sup> | 0,99   | 2,57     | 3,420(4) | 143,7    |
| C13-H13a...Ct <sup>iii</sup> | 0,99   | 2,71     | 3,611    | 151,9    |
| C11-H11b...Ct2 <sup>iv</sup> | 0,99   | 2,69     | 3,643    | 160,6    |

Fonte: Do autor.

Legenda:  $d$  = distância;  $\langle(D-H-A)$  = ângulo. Ct é um centroide de anel aromático. Códigos de simetria: <sup>i</sup>  $-x+2, -y+2, -z-1$ ; <sup>ii</sup>  $-x+1, -y+1, -z$ ; <sup>iii</sup>  $-x+2, -y+1, -z$ ; <sup>iv</sup>  $-x+1, -y+1, -z$ .

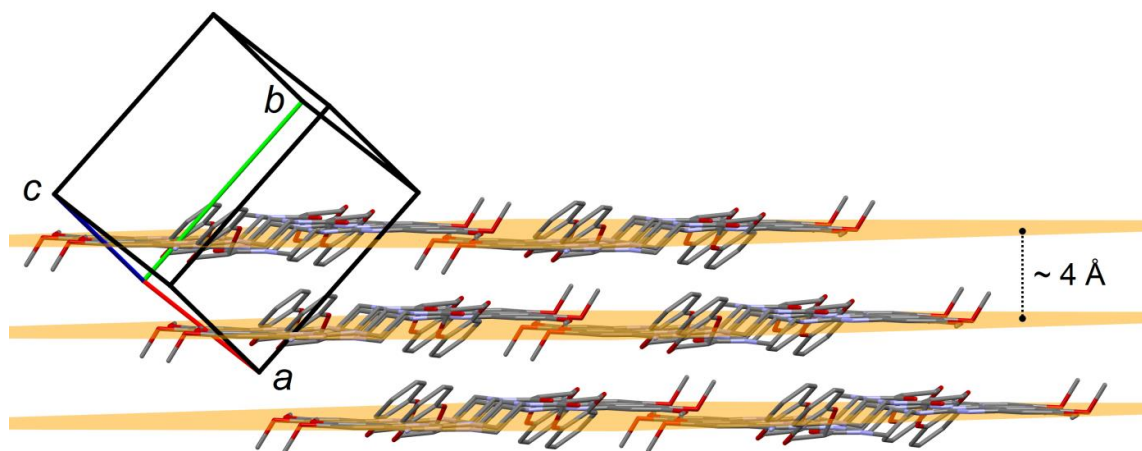
As cadeias duplas são conectadas por elas mesmas através de interações de *van der Waals* ao longo da direção [101], resultando em camadas planas supramoleculares paralelas ao plano (-121) (Figura 18). O empilhamento inter-camadas (Figura 19) é estabilizado por três pares (as ligações de H de cada par estão relacionadas por simetria de inversão) de ligações de H não clássicas (uma do tipo C-H...O e duas do tipo C-H... $\pi$ -aril) envolvendo átomos de carbono metileno (C11, C13 e C23), um grupo metoxílico, e dois anéis aromáticos (Tabela 3, Figura 20).

Figura 18 - Visão do empacotamento da DXZ-BL destacando as camadas planas supramoleculares (uma rede bidimensional destacada pelos planos dos mínimos quadrados (em verde), através das moléculas no empacotamento parcial) paralelo ao plano (-121). As ligações de hidrogênio são representadas por linhas tracejadas em ciano.



Fonte: Do autor.

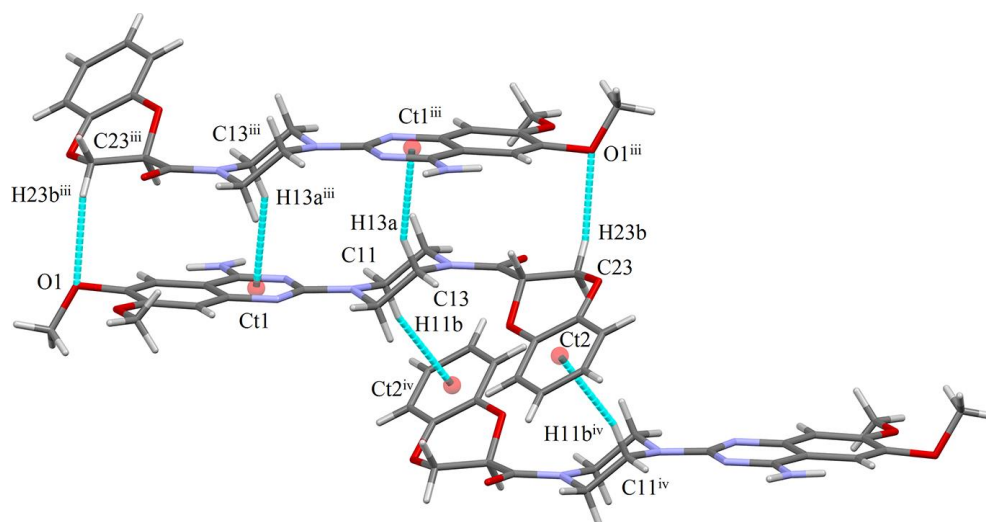
Figura 19 - O empacotamento da DXZ-BL mostrando o empilhamento das camadas, vista normal ao plano cristalográfico (101). A separação entre as camadas destacadas em laranja é de  $\sim 4$  Å. Átomos H foram omitidos por uma questão de clareza.



Fonte: Do autor.

Portanto, considerando o padrão de ligações de H como um todo, o átomo de O1 funciona como um aceptor bifurcado de ligações de H a partir dos doadores N3 e C23 (Tabela 3, Figuras 17 e 20). Neste momento, nota-se que o desvio do átomo de carbono metoxílico C9 do plano calculado através dos átomos do anel quinazolina discutido acima, pode estar associado a efeitos de impedimento intermolecular envolvendo os grupos metoxílico e amino das moléculas vizinhas (Tabela 3, Figuras 17 e 18).

Figura 20 - Representação dos contatos intermoleculares das inter-camadas estabilizadas por ligações de H não clássicas e interações CH... $\pi$ -aril. As interações intermoleculares são representadas por linhas tracejadas. Ct é o centroide calculado do anel aromático. Códigos de simetria: <sup>iii</sup> -x + 2, -y + 1, -z; <sup>iv</sup> -x + 1, -y + 1, -z.



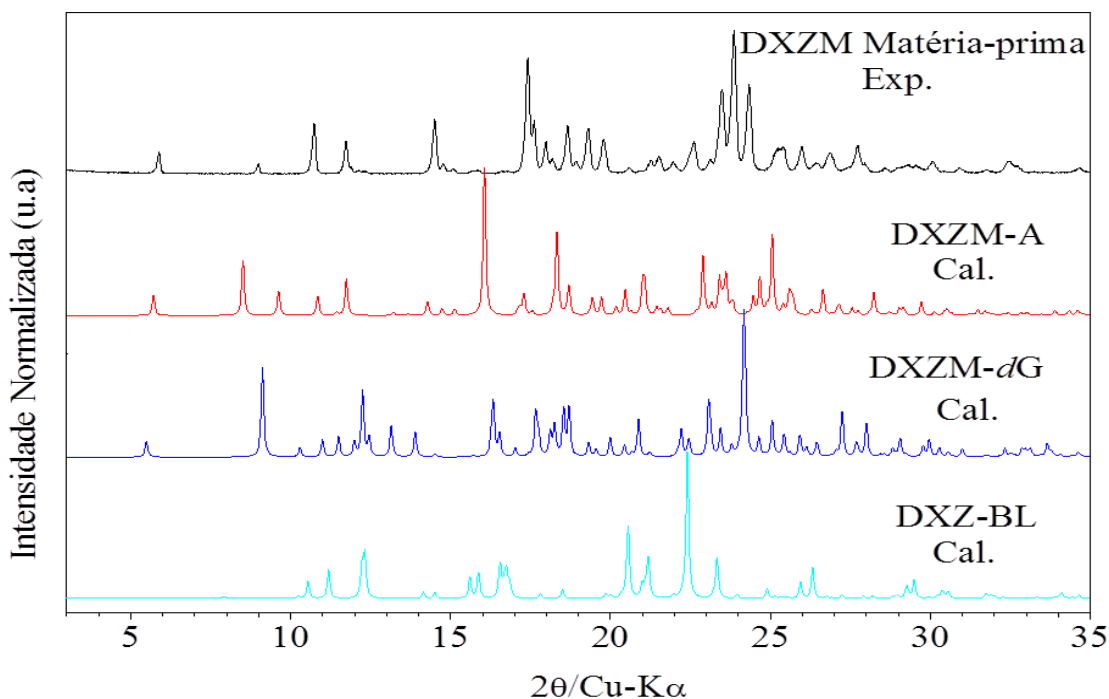
Fonte: Do autor.

#### 4.1.2.2 Caracterização do DXZM-H (insumo) e das formas recristalizadas (DXZ-BL e DXZM-A)

As tentativas de recristalizações descritas na *seção 3.3* foram acompanhadas diariamente por meio de inspeção visual ou microscópio do tipo “lupa”. Os materiais sólidos obtidos foram analisados por DRXP e comparados aos dados da literatura e às estruturas depositadas no banco de dados de estruturas cristalinas para compostos orgânicos, de coordenação e organometálicos do CSD (*Cambridge Structural Database*), que é mantido pelo *Cambridge Crystallographic Data Center* (CCDC) para verificar a existência, ou não, de uma nova forma sólida da DXZ.

O padrão experimental de DRXP da matéria-prima do DXZM foi comparado com os calculados a partir das estruturas cristalinas do DXZM-A (arquivo CSD CIF ULIYET), do DXZM-*dG* (arquivo CSD CIF ULIYIX) (CHERNYSHEV, et al., 2003) e da DXZ-BL (determinado aqui) e não mostraram qualquer correspondência (Figura 21).

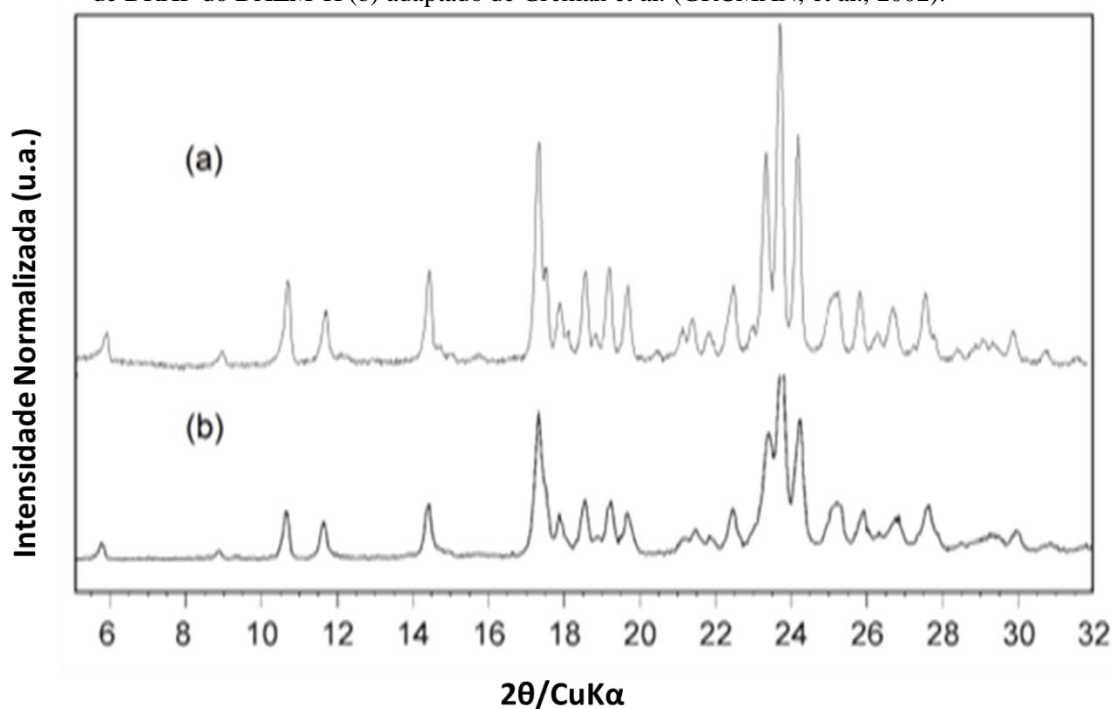
Figura 21 - Padrão experimental de DRXP da matéria-prima de DXZM comparado aos calculados de DXZM-A (CSD CIF ULIYET) e DXZM-*dG* (CSD CIF ULIYIX) (CHERNYSHEV, et al., 2003) e DXZ-BL (estrutura determinada aqui).



Fonte: Do autor.

Por outro lado, a comparação com os padrões experimentais relatados na literatura nos levou a considerá-la equivalente ao DXZM-H (GRCMAN, et al., 2002) (também denominado Forma II) (GRAFE; MORSDORF, 1996; MORSDORF; GRAFE, 1997) (Figura 22), pelo menos como fase majoritária. Desta forma, a matéria-prima do DXZM foi nomeada aqui como DXZM-H.

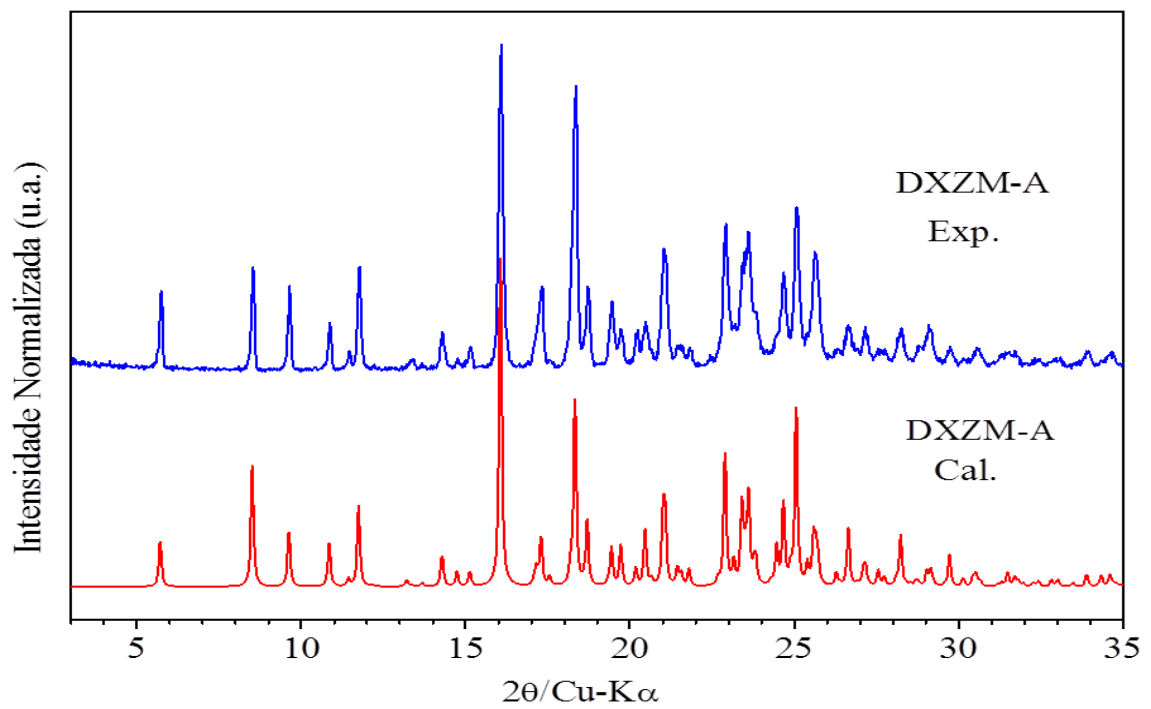
Figura 22 - Padrão experimental de DRXP da matéria-prima do DXZM (a) comparado ao padrão experimental de DRXP do DXZM-H (b) adaptado de Grcman et al. (GRCMAN, et al., 2002).



Fonte: Do autor.

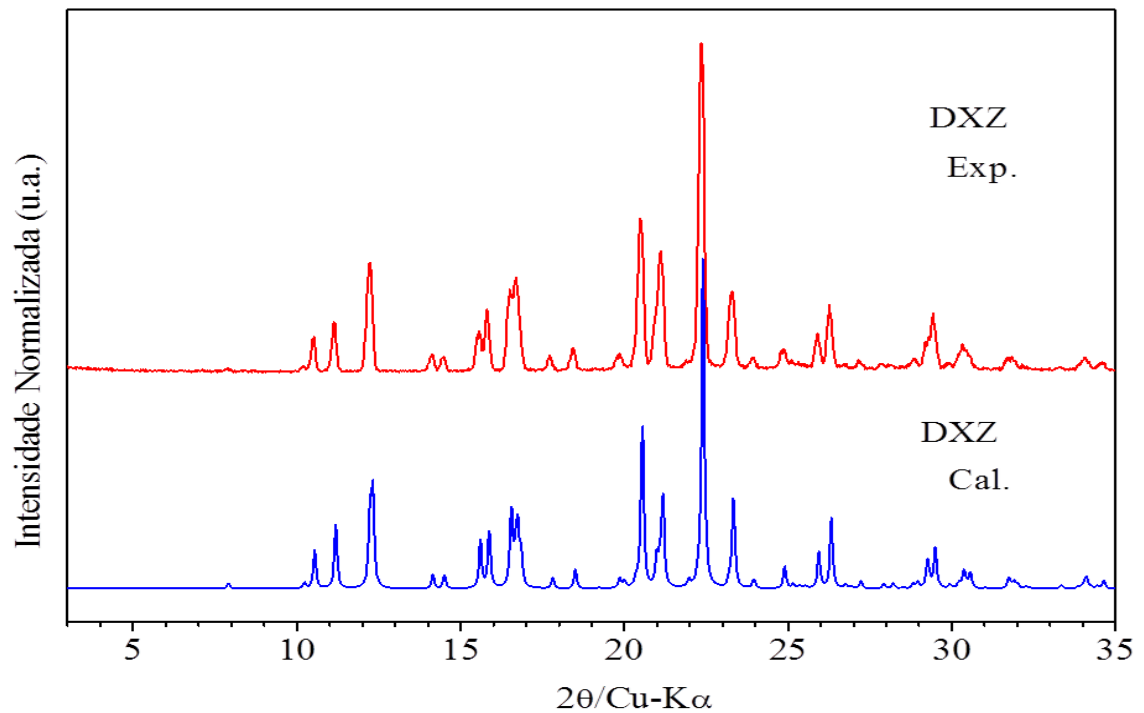
O padrão experimental de DRXP do material policristalino recristalizado a partir do DXZM-H dissolvido em metanol (*ver seção 3.3*) corresponde àquele calculado a partir da estrutura cristalina do DXZM-A (CSD CIF ULIYET) (CHERNYSHEV, et al., 2003), e sem picos espúrios evidentes no padrão experimental, indicando ser a forma sólida pura (Figura 23). Finalmente, o material policristalino sintetizado/recristalizado a partir do DXZM-H por neutralização de pH (*ver seção 3.3*) foi confirmada como sendo a estrutura cristalina da DXZ-BL, comparando-se os padrões experimentais e calculados de DRXP (a partir da estrutura determinada aqui para DXZ-BL) (Figura 24).

Figura 23 - Padrões de DRXP do DXZM-A experimental e calculado (a partir da estrutura cristalina determinada por Chernyshev, et al. (CIF ULIYET) (CHERNYSHEV, et al., 2003).



Fonte: Do autor.

Figura 24 - Padrões de DRXP da DXZ-BL experimental e calculado (a partir da estrutura cristalina determinada neste trabalho).

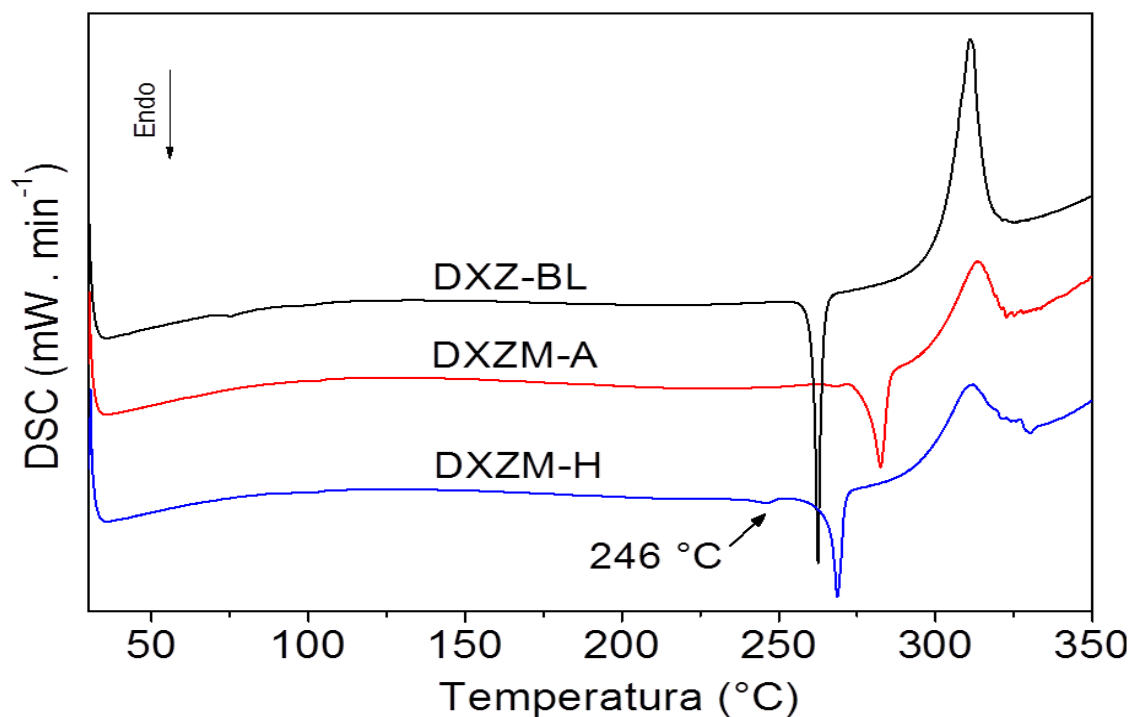


Fonte: Do autor.

#### 4.1.2.3 Análises Térmicas (DSC e TG-DTA)

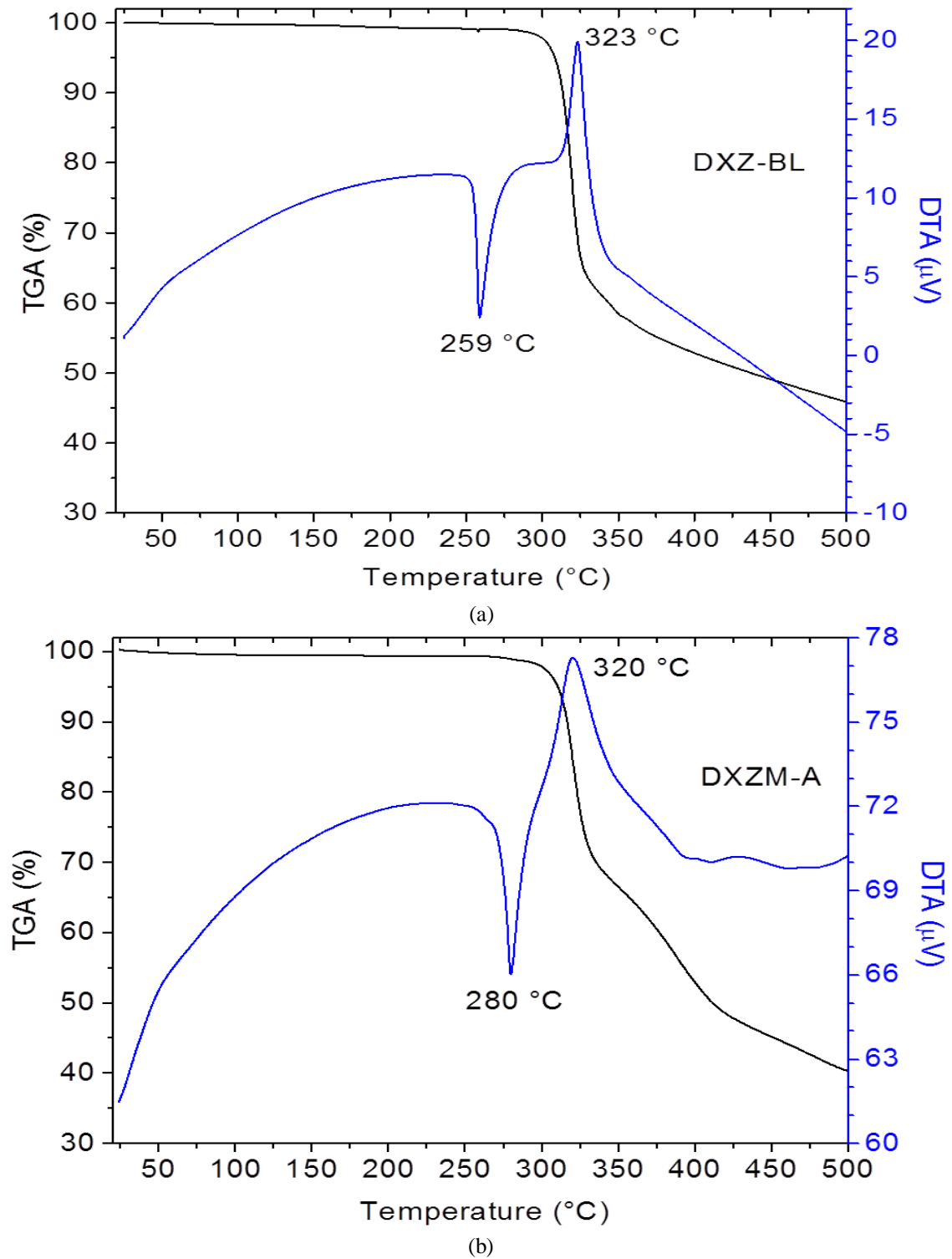
As curvas de DSC das amostras DXZM-A, DXZM-H e DXZ-BL (Figura 25) mostram picos endotérmicos em 282 ( $\Delta H_{\text{fusão}} = 52,10 \text{ mJ} \cdot \text{mg}^{-1}$ ), 269 ( $\Delta H_{\text{fusão}} = 49,10 \text{ mJ} \cdot \text{mg}^{-1}$ ) e a 262 °C ( $\Delta H_{\text{fusão}} = 83,50 \text{ mJ} \cdot \text{mg}^{-1}$ ), respectivamente (Figura 25). Picos endotérmicos, como esperado, estão presentes nas curvas DTA das amostras DXZ-BL, DXZM-A e DXZM-H em temperaturas comparáveis de 259, 280 e 266 °C, respectivamente, corroborando os dados de DSC (Figura 26). Como esses picos endotérmicos não são acompanhados pela perda de massa nas curvas TG-DTA, eles são atribuídos à fusão de cada forma. Os picos exotérmicos acima de 300 °C nas curvas DSC e DTA seguidos pela perda de massa nas curvas TG, correspondem às temperaturas de decomposição das três formas aqui estudadas (Figura 26).

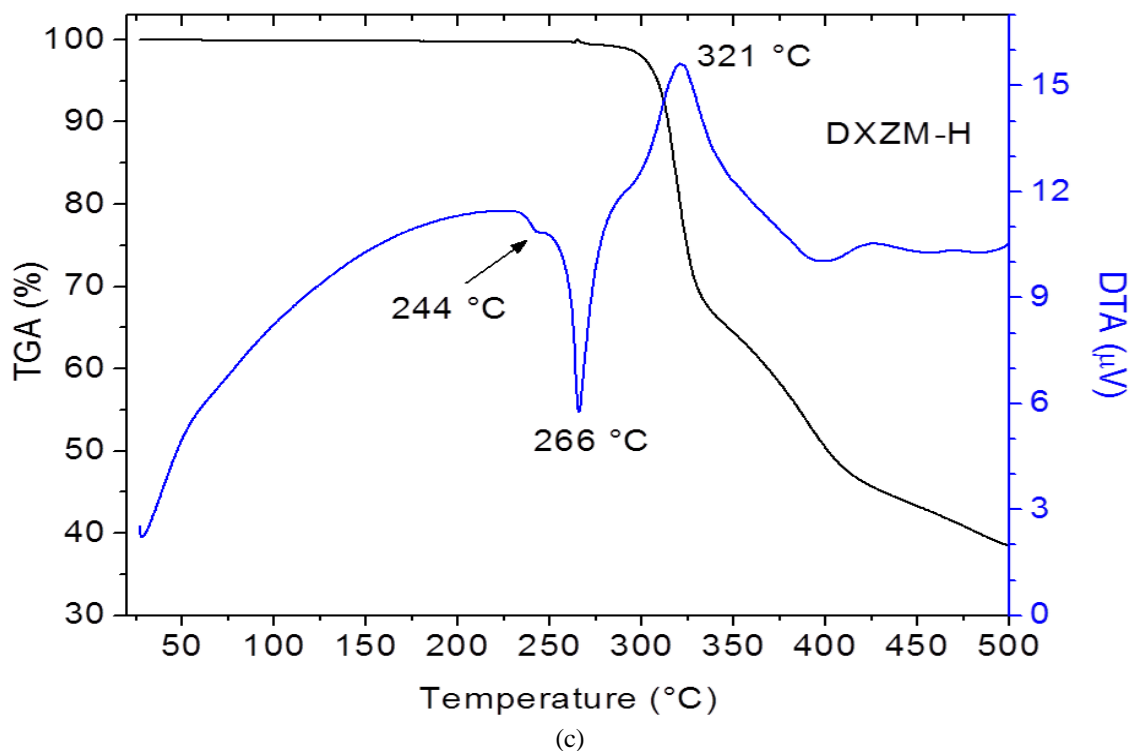
Figura 25 - Curvas DSC das amostras DXZ-BL, DZXM-A e DZXM-H na faixa de 30 a 350 °C, a uma taxa de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  sob fluxo de  $\text{N}_2$  ( $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ).



Fonte: Do autor.

Figura 26 - Curvas TG-DTA das amostras DXZ-BL (a), DXZM-A (b) e DXZM-H (c) na faixa de 30 a 500 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup> sob fluxo de N<sub>2</sub> (50 mL.min<sup>-1</sup>).





Fonte: Do autor.

A temperatura de fusão da DXZM-A aqui observada está de acordo com aquelas anteriormente atribuídas a este polimorfo do DXZM: 281 °C (US006140334A), (MORSDORF; GRAFE, 1997) 282 °C (US006500830B1), (BIRKENHEIDE, et al., 1998) 279 °C (US006399775B1), (GIRIDHAR, et al., 2000) e 278 °C (GRCMAN, et al., 2002). A menor temperatura de fusão observadas nas curvas DSC e DTA para a forma DXZM-H em comparação à forma DXZM-A está de acordo com os valores estabelecidos para a forma DXZM II (que é igual ao DXZM-A, 266 °C) na patente US006133269A32 (MORSDORF; GRAFE, 1997) e na forma H (*T on set* a 258 °C) (GRCMAN, et al., 2002). Além disso, nossa amostra de DXZM-H apresenta um pequeno pico endotérmico extra, anterior à fusão observada nas curvas DSC (246 °C) ou DTA (244 °C), o que poderia indicar a fusão de uma parte minoritária de DZXM fisicamente misturada ao material da DZXM-H ou uma transição de fase para outro polimorfo como sugerido na literatura (GRCMAN, et al., 2002).

O ponto de fusão mais elevado e o calor de fusão ( $\Delta H_{\text{fusão}}$ ) da DZXM-A indicam que ela é termodinamicamente mais estável que a DZXM-H (SUN, et al., 2014). Portanto, considerando que DZXM-A e DZXM-H são polimorfos monotrópicos, DZXM-H é esperado ser mais solúvel que o DZXM-A, o que foi confirmado pelos nossos resultados de solubilidade (*ver seção 4.1.2.4*). Por outro lado, apesar da menor temperatura de fusão e

maior entalpia de fusão da DXZ-BL comparado ao DZXZM-A ou DZXZM-H, espera-se que ela seja menos solúvel, devido à solubilidade geralmente mais alta das formas salinas em comparação às bases ou ácidos livres. Essa tendência também foi confirmada em nossos estudos de solubilidade (*ver seção 4.1.2.4*).

#### **4.1.2.4 Estudo de solubilidade em equilíbrio para a DXZ-BL, DXZM-A e DXZM-H**

Os valores de solubilidade em equilíbrio para a DXZ-BL, DXZM-A e DXZM-H testados neste trabalho nos diferentes meios aquosos estão mostrados na Tabela 4. Os dados também estão representados na Figura 27, destacando as diferenças entre as formas nos diferentes meios. Os valores de pH em equilíbrio foram medidos e não indicaram alterações significativas, considerando o pH inicial do meio, com exceção das soluções saturadas utilizadas para determinar a solubilidade em equilíbrio do DXZM-A e DXZM-H em água (pH inicial = 6,8). A redução do pH para estes dois casos era esperada, devido à hidrólise da espécie catiônica de DXZ liberada na solução a partir do DXZM, que é um sal ácido. Neste ponto, é importante lembrar que a DXZ é um eletrólito fraco e sua solubilidade e dissolução dependem do estado de ionização, que é controlado pelo pH da solução e pela constante de dissociação (pKa). Como discutido *na seção 4.1.2*, a formação de uma base livre de DXZ (forma monocomponente) ou sal (forma multicomponente) envolve a protonação/desprotonação do átomo de nitrogênio (N1) do anel quinazolina da doxazosina (vide Figura 14).

O pKa envolvendo a dissociação da DXZ ( $DH^+_{(sol.)} \rightarrow D^0_{(sol.)} + H^+$ ) é 6,93 (CHUNG, et al., 1999; DE BETOÑO; GARCIA; VALENTÍN, 1999; CARDURA, 2018; DRUGBANK, 2018; DRUGIFORSY, 2018). Portanto, considerando a distribuição de espécies pH dependentes (ácido-base) calculada para a DXZ (Figura 27), a fração molar das espécies  $DH^+_{(sol.)}$  serão mais solúveis na faixa de pH ácido do que as espécies  $D^0_{(sol.)}$  e, vice-versa, na faixa de pH alcalino.

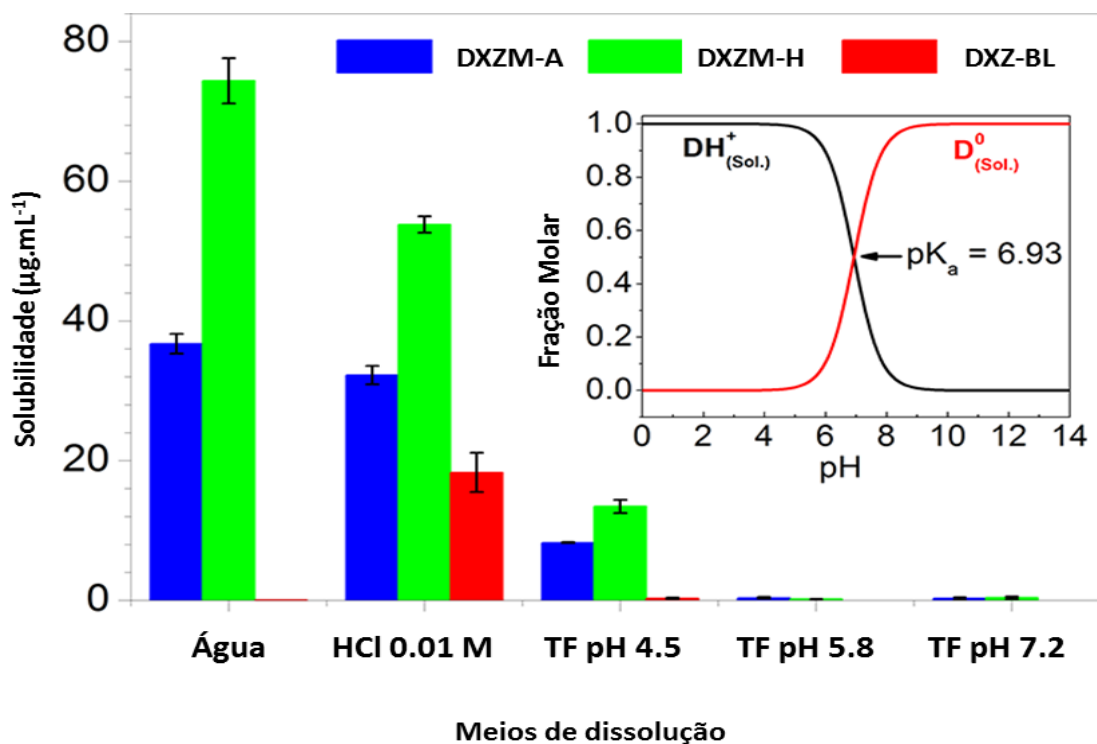
Tabela 4 - Dados da solubilidade em equilíbrio das formas sólidas de DXZ-BL, DXZM-A e DXZM-H e os valores de  $\text{pH}_{\text{final}}$  dos diferentes meios.

|  | DXZM-A ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )         | DXZM-H ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )         | DXZ-BL ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )         |
|--|--|--|--|
| Água<br>(pH 6,8)                         | 36,70 (+/-1,39)<br>pH <sub>f</sub> : 4,0 | 74,34 (+/-3,22)<br>pH <sub>f</sub> : 3,7 | 0,06 (+/-0,00)<br>pH <sub>f</sub> : 7,6  |
| HCl 0,01 mol.L <sup>-1</sup><br>(pH 1,2) | 32,23 (+/-1,31)<br>pH <sub>f</sub> : 1,9 | 53,80 (+/-1,16)<br>pH <sub>f</sub> : 1,9 | 18,33 (+/-2,80)<br>pH <sub>f</sub> : 3,4 |
| Tampão Fosfato pH<br>4,5                 | 8,26 (+/-0,07)<br>pH <sub>f</sub> : 3,8  | 13,44 (+/-0,95)<br>pH <sub>f</sub> : 3,5 | 0,31 (+/-0,10)<br>pH <sub>f</sub> : 5,1  |
| Tampão Fosfato pH<br>5,8                 | 0,36 (+/-0,12)<br>pH <sub>f</sub> : 6,1  | 0,20 (+/-0,02)<br>pH <sub>f</sub> : 6,0  | N/D*<br>pH <sub>f</sub> : 5,9            |
| Tampão Fosfato pH<br>7,2                 | 0,29 (+/-0,17)<br>pH <sub>f</sub> : 6,2  | 0,39 (+/-0,19)<br>pH <sub>f</sub> : 5,7  | N/D*<br>pH <sub>f</sub> : 7,2            |

Fonte: Do autor.

Legenda: \*N/D = não detectável.

Figura 27 - Solubilidade em equilíbrio para as formas sólidas da DXZ-BL, DXZM-A e DXZM-H. Distribuição das frações molares pH-dependente da DXZ  $\alpha_1 = [\text{DH}^+_{(\text{sol})}]/C = (1 + (K_a/[\text{H}^+]))$ ;  $\alpha_0 = [\text{D}^0_{(\text{sol})}]/C = \alpha_1(K_a/[\text{H}^+])$ ; em que  $\alpha_0 + \alpha_1 = 1$  e  $C = [\text{DH}^+_{(\text{sol})}] + [\text{D}^0_{(\text{sol})}]$ . A curva mostra o pH em passos de 0,1.



Fonte: Do autor.

Os dados apresentados neste trabalho confirmam a tendência mencionada acima, considerando que a solubilidade em equilíbrio nos tampões fosfato pH 5,8 e 7,2 foi muito baixa (menos de  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) ou não detectável (N/D), independentemente da forma cristalina. Também como esperado, no meio tampão pH 4,5, a solubilidade em equilíbrio de ambas as formas do sal de mesilato aumentou significativamente e a solubilidade da DXZ-BL tornou-se, pelo menos, detectável devido à maior quantidade de  $\text{DH}^+_{(\text{sol.})}$  em soluções mais ácidas. Os valores de solubilidade em equilíbrio das formas do sal (DXZM-A e DXZM-H) são maiores em água, em que o pH final atinge valores comparáveis aos observados no tampão pH 4,5. Sendo assim, as formas sólidas do sal tendem a diminuir o pH e a maior solubilidade permanece de acordo com parte dos dados da literatura (HERBIG, et al., 1995; CHA, et al., 2010; PAVLI; VREČER; BAUMGARTNER, 2010).

Por outro lado, a forma de DXZ-BL permaneceu praticamente insolúvel em água, pois as espécies  $\text{D}^0_{(\text{sol.})}$  liberadas a partir da rede cristalina da DXZ-BL é pouco solúvel em água (Tabela 4). No meio de HCl  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , as duas formas de sal novamente apresentaram maior solubilidade em comparação com os meios neutros ou ligeiramente alcalinos. A diferença observada no meio HCl  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  foi o aumento da solubilidade para a forma de DXZ-BL. Esta característica pode ser explicada pela conversão da espécie  $\text{D}^0_{(\text{sol.})}$  em  $\text{DH}^+_{(\text{sol.})}$ , garantida pelo pH do meio de HCl  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

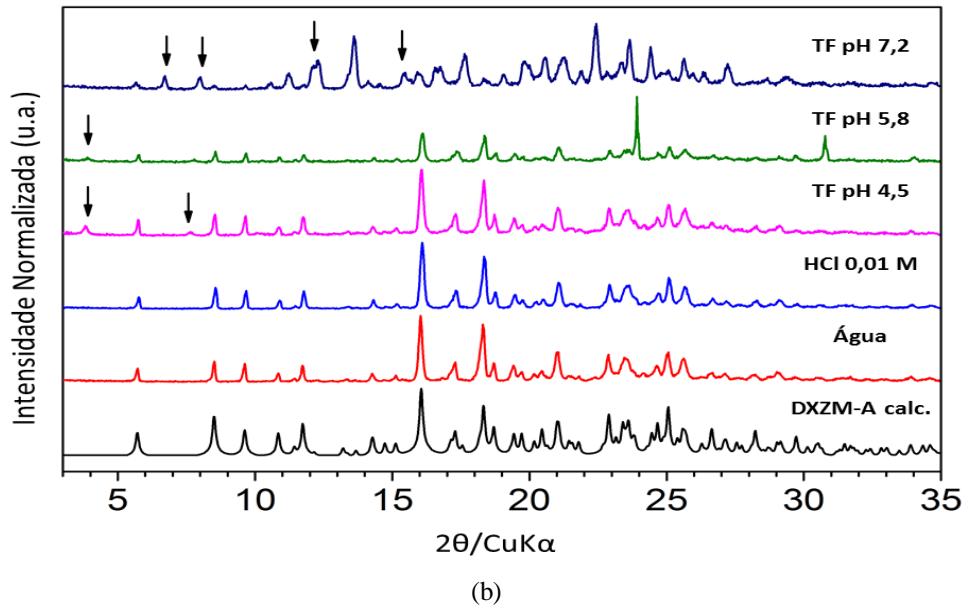
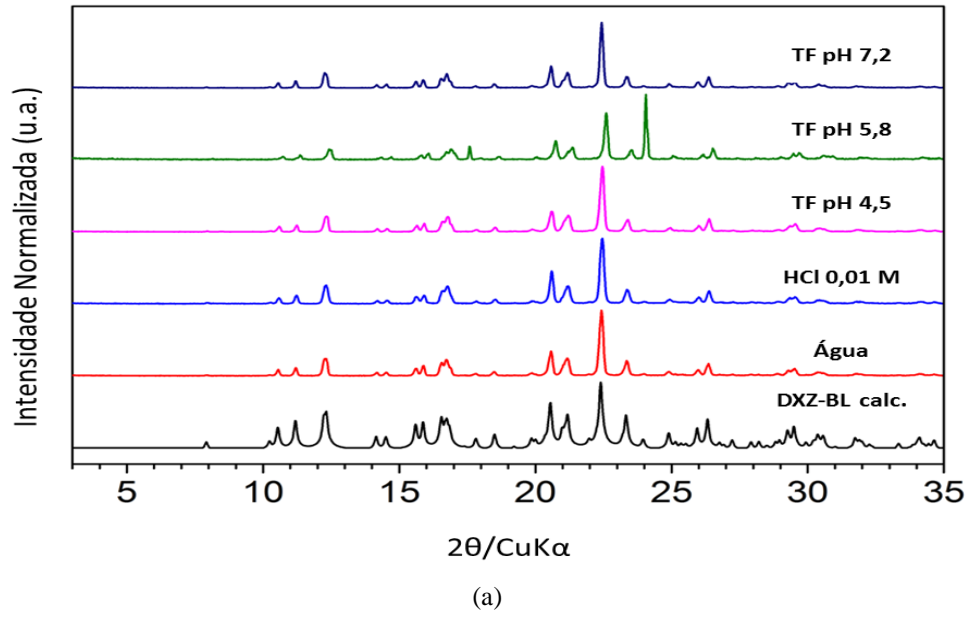
Foram obtidos padrões experimentais de DRXP para os materiais sólidos residuais das soluções saturadas utilizadas no estudo de solubilidade em equilíbrio, para provar que as formas cristalinas utilizadas inicialmente permanecem inalteradas durante o estabelecimento do equilíbrio, (Figura 28). Os padrões de DRXP mostraram que a forma DXZ-BL permanece como uma fase sólida única, independentemente do meio. Nossos resultados não confirmam as suspeitas de sua conversão ao cloridrato de DXZ em meio de HCl, discutido na literatura, para justificar sua maior solubilidade que o DXZM (ERCEG, et al., 2012). Nossos padrões de DRXP também mostram que as formas do DXZM-H e DXZM-A são mantidas durante o estabelecimento de equilíbrio em água e meio HCl  $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Por outro lado, alguns picos de difração espúrios estão presentes nos padrões de DRXP das formas DXZM-H e DXZM-A em todos os três meios de tampão fosfato, indicando que ambas as formas de sal poderiam sofrer uma conversão parcial durante o estudo de solubilidade em equilíbrio para outra forma cristalina (provavelmente um sal fosfato de DXZ).

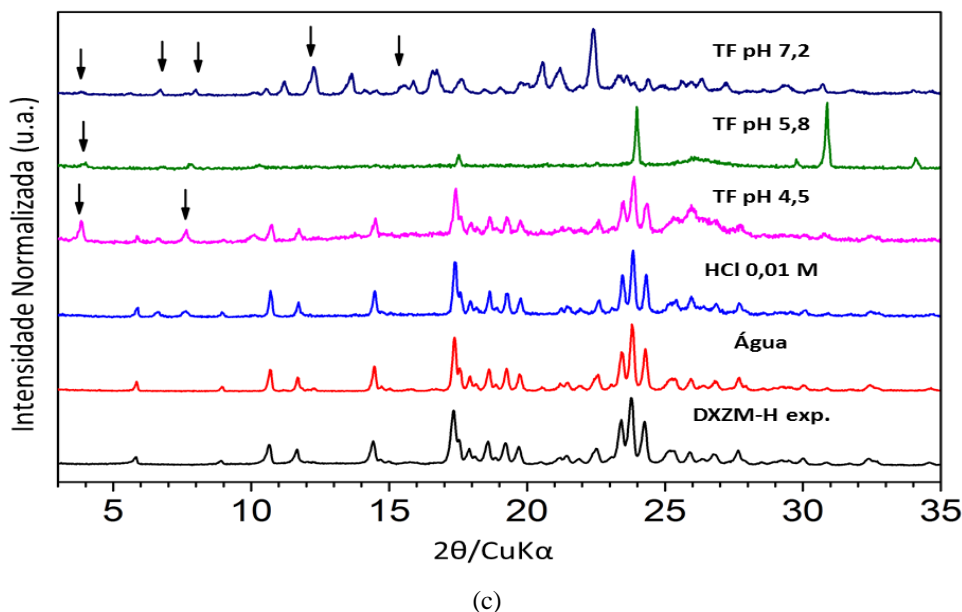
Portanto, os valores de solubilidade em equilíbrio obtidos para a DXZ-BL, DXZM-H e DXZM-A no meio de tampão fosfato pH 4,5, 5,8 e 7,2 não puderam ser considerados valores reais.

De fato, além das transições de fase, há dois fatores complicadores na interpretação dos dados, quando as solubilidades de equilíbrio são comparadas: a coexistência de duas espécies diferentes da DXZ pH dependente, na faixa de pH estudada e o conhecimento de que as diferentes formas aquosas (HCl, tampões fosfato ou água pura) apresentam diferentes concentrações de eletrólitos (força iônica) para atingir diferentes pH. Em termos gerais, podemos afirmar que: a) as três formas são praticamente insolúveis ou muito pouco solúveis em pH neutro, tendência que provavelmente será mantida em pH alcalino; b) a DXZ-BL apresentou solubilidade significativa apenas em meio HCl 0,01 mol.L<sup>-1</sup>; no entanto, 66% e 43% menos solúvel do que DXZM-H e DXZM-A, respectivamente; e c) nos meios ácidos em que as formas do sal apresentaram uma solubilidade aumentada, o DXZM-H foi sempre mais solúvel do que o DXZM-A.

A menor solubilidade da DXZ-BL em comparação às formas do DXZM-H e DXZM-A confirma a tendência esperada da comparação de base/ácidos livres e sais do mesmo IFA. Um ponto a se destacar é que, comparando os dois polimorfos do DXZM, nossos resultados mostram que a DXZM-H é mais solúvel que a DXZM-A em água (~ 2 vezes) ou no meio ácido (~ 1,6 vezes) como mostrado aqui. Esse resultado corrobora com a expectativa apontada pelas análises térmicas (DSC e TG/DTA), que mostra que o DXZM-A é mais estável que o DXZM-H. O DXZM-H é a forma metaestável do DXZM, como demonstrado anteriormente para a DXZM forma F, que apresenta solubilidade aproximadamente duas vezes maior que a DXZM-A a 25 °C seja em etanol ou água (GRCMAN, et al., 2002).

Figura 28 - Padrões de DRXP do material policristalino das amostras após o estudo de solubilidade em equilíbrio para a DXZ-BL (a), DXZM-A (b) e DXZM (c).





Fonte: Do autor.

## 5.2 Parte II - FLU

A segunda parte dos resultados e discussão é referente ao IFA FLU.

### 5.2.1 Identificação das formas cristalinas do FLU presente em amostras de matérias-primas e medicamentos

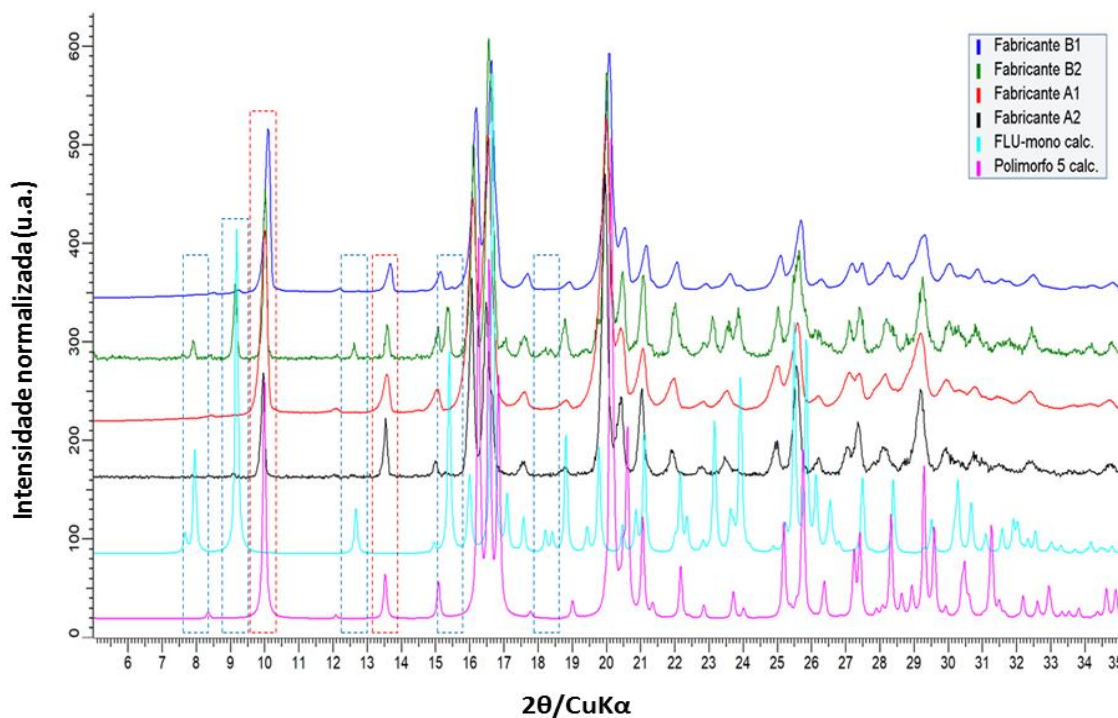
A Figura 29 mostra os padrões de difração experimentais de diferentes lotes e fabricantes do IFA comparados aos padrões calculados a partir de dados de DRXM do FLU-5 e FLU-H<sub>2</sub>O. Nela estão destacados pelas linhas tracejadas vermelhas (FLU-5) e azuis (FLU-H<sub>2</sub>O) os picos correspondentes a cada uma destas fases. É evidente, neste comparativo, que há diferenças entre os lotes avaliados em relação à quantidade relativa das duas fases.

A comparação dos DRXP dos dois lotes do fabricante A sugere que o lote A1 contém apenas o FLU-5, enquanto o lote A2 é constituído de uma mistura contendo o FLU-5 misturado a uma pequena quantidade de FLU-H<sub>2</sub>O (vide picos em *e.g.* ~9,0 e 12,5 ° em 2θ) (Figura 30). No caso dos lotes do fabricante B, observa-se que ambos são misturas de FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O tendo o FLU-5 como fase majoritária. O diferencial é que para o lote B2 a quantidade relativa de FLU-H<sub>2</sub>O é visivelmente superior ao lote B1 (Figura 31).

A presença de FLU-H<sub>2</sub>O nas amostras estudadas pode estar relacionada à sua formação durante a fabricação e/ou armazenamento e/ou transporte do IFA, a partir da

transição de fase anidrato-hidrato (FLU-5  $\rightarrow$  FLU-H<sub>2</sub>O), hipótese que foi uma das motivações para o estudo apresentado *seção 5.2.2* dessa tese.

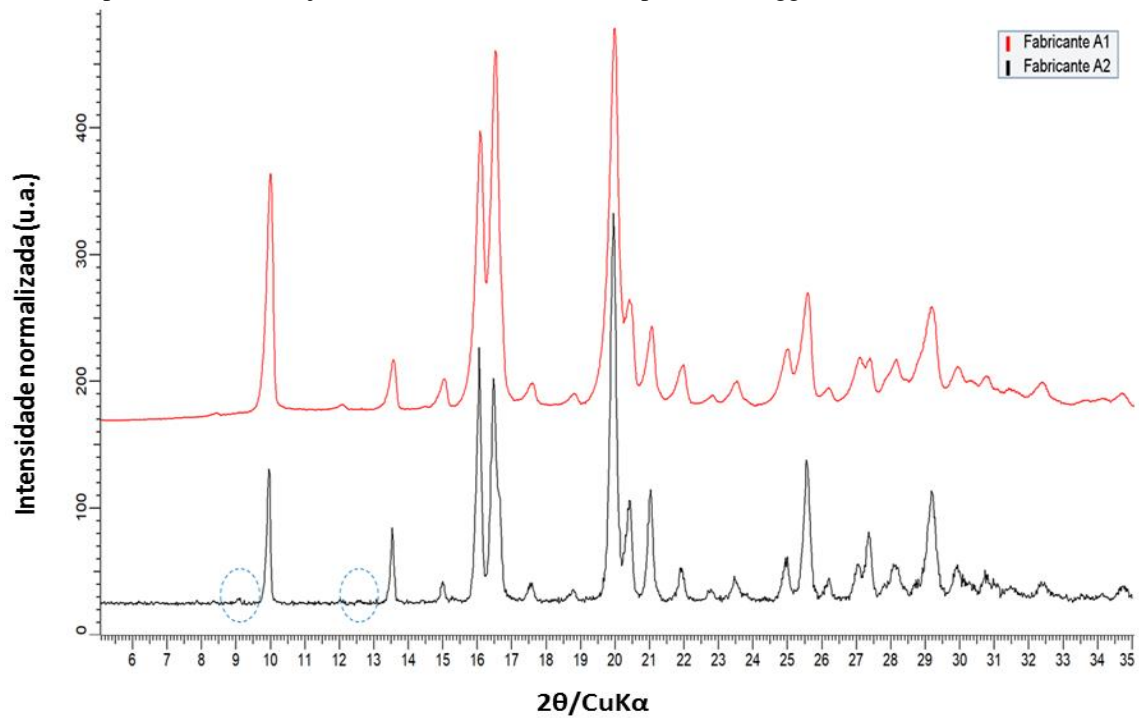
Figura 29 - Difratogramas experimentais de diferentes lotes e fabricantes do FLU. Em destaque pelas linhas tracejadas azuis estão os picos de Bragg característicos do FLU-H<sub>2</sub>O e em vermelho os picos correspondentes ao FLU-5.



Fonte: Do autor.

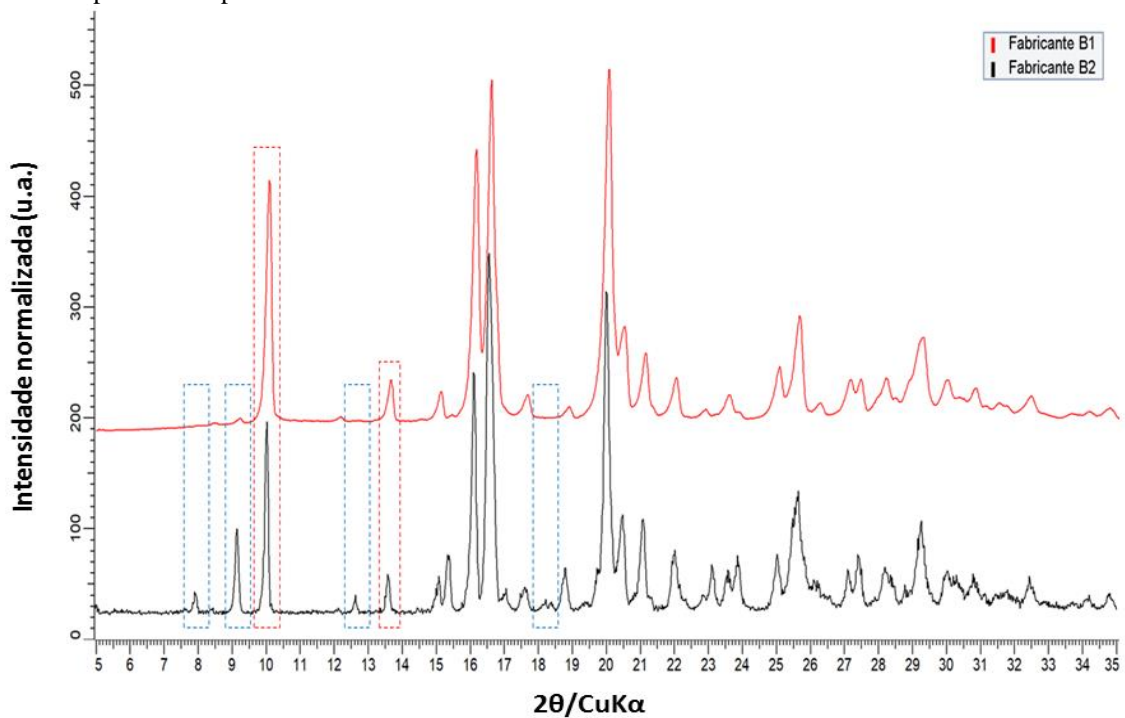
O padrão de DRXP da amostra de medicamento “referência” estudada nessa tese sugere que ele possui o FLU-H<sub>2</sub>O como fase única ou majoritária do IFA (Figuras 32a e 32b). O inverso é observado nos padrões de DRXP das amostras dos medicamentos “similar” e “genérico” (Figuras 32a e 32c), que sugerem o FLU-5 como fase única ou majoritária do princípio ativo. É importante mencionar que os picos não coincidentes com os padrões de DRXP calculados do FLU-5 e FLU-H<sub>2</sub>O são picos pertencentes, muito provavelmente, aos excipientes da formulação. Curiosamente, não há relatos da literatura de falhas na *performance* de medicamentos similares e genéricos de FLU (CHAROO, et al., 2014). Esses resultados motivaram-nos a realizar um estudo comparando a solubilidade do FLU-5 e do FLU-H<sub>2</sub>O no sentido de confirmar se ambos podem ser classificados como de classe I ou III.

Figura 30 - Difratomogramas experimentais de dois lotes de matéria-prima do fabricante A do FLU. Em destaque pelos círculos tracejados azuis estão mostrados os picos de Bragg característicos do FLU-H<sub>2</sub>O.



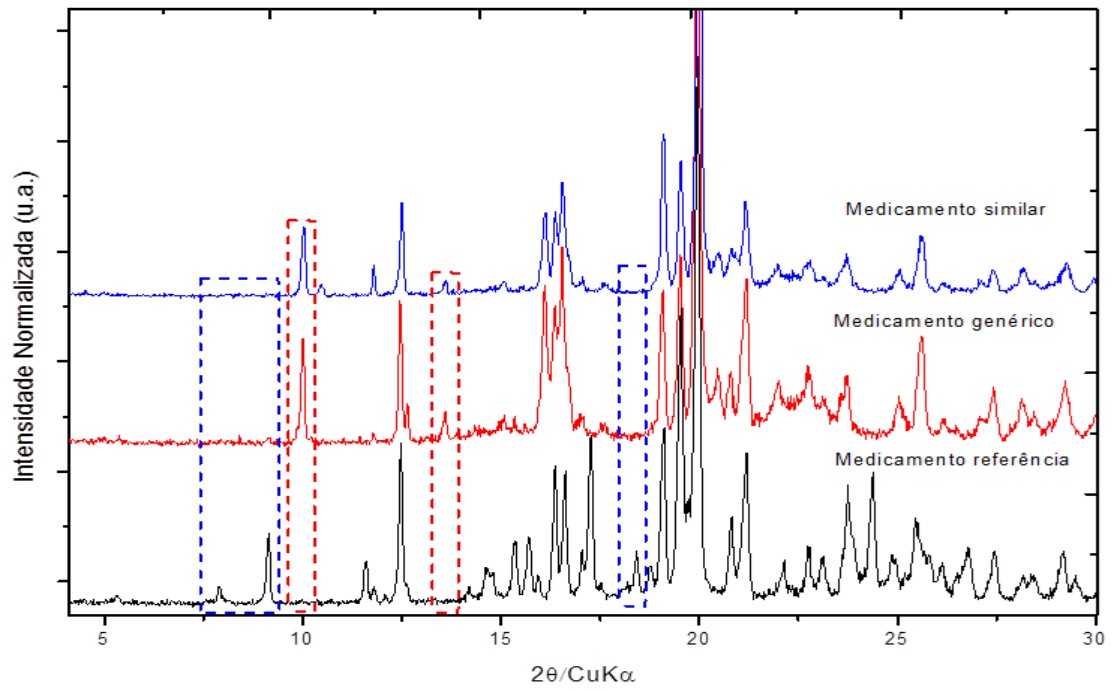
Fonte: Do autor.

Figura 31 - Difratomogramas experimentais de dois lotes de matéria-prima do fabricante B do FLU. Em destaque pelas linhas tracejadas azuis estão os picos de Bragg característicos do FLU-H<sub>2</sub>O e em vermelho os picos correspondentes ao FLU-5.

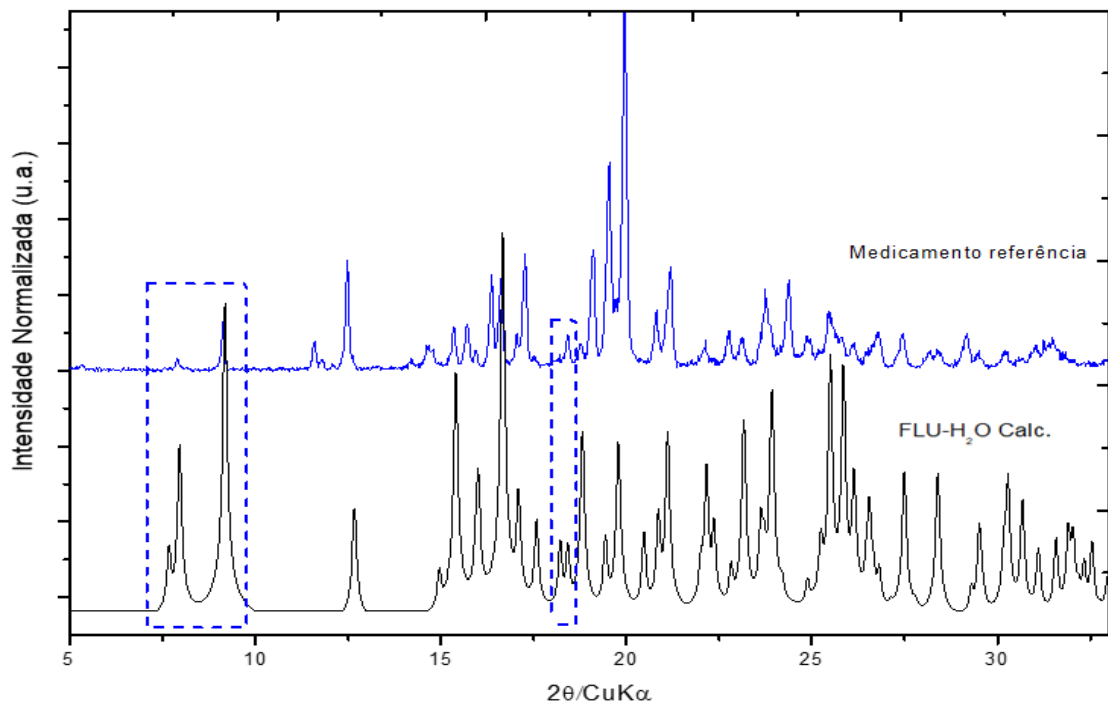


Fonte: Do autor.

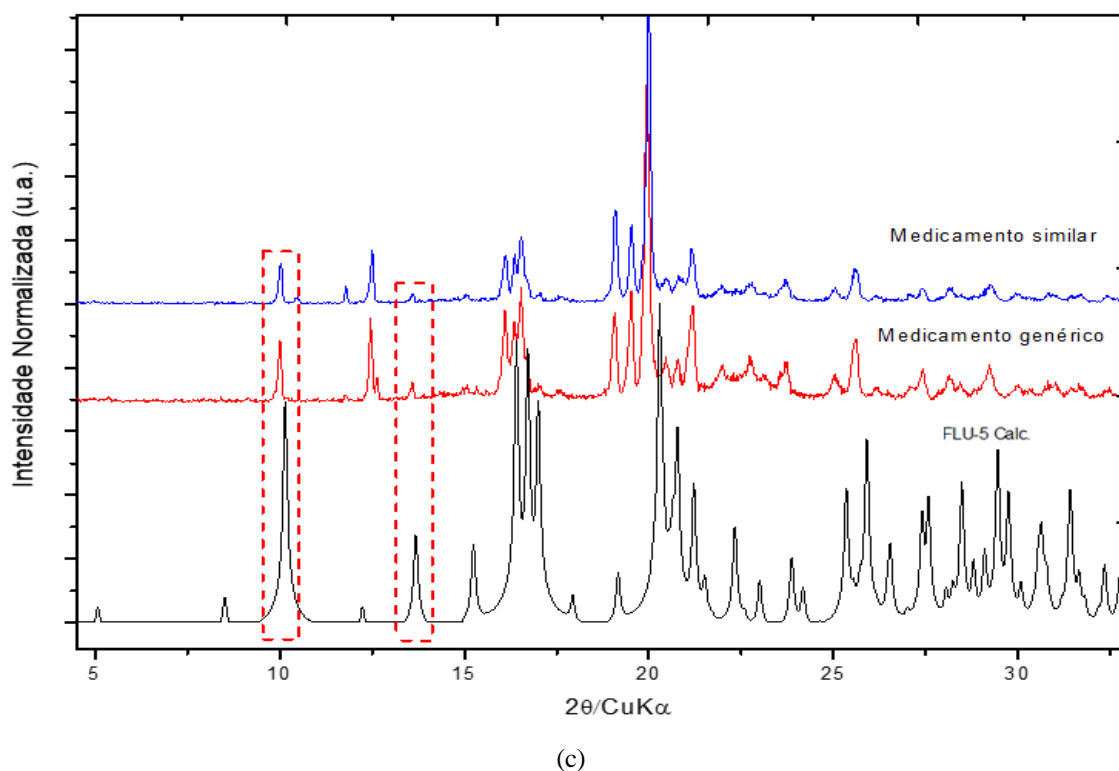
Figura 32 - Difratomogramas experimentais (a) dos medicamentos referência, similar e genérico do FLU (b) referência comparado ao padrão calculado do FLU (CIF: IVUQIZ) e (c) similar e genérico comparados ao padrão calculado do FLU-5 (CIF: IVUQF02).



(a)



(b)



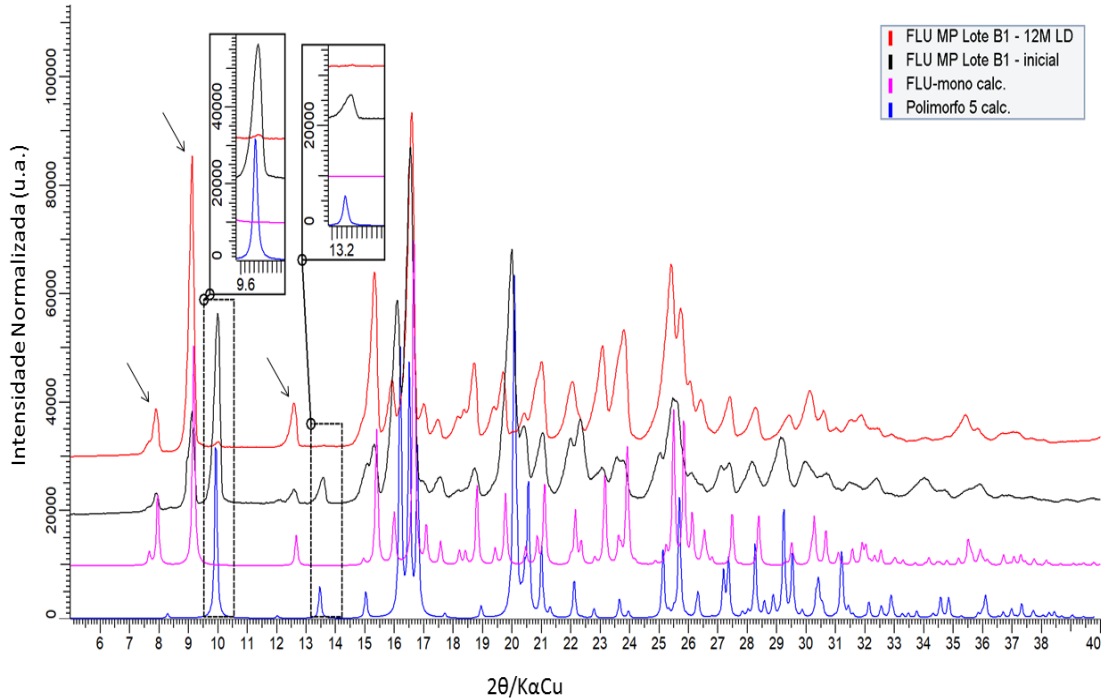
Fonte: Do autor.

### 5.2.2 Estudos de estabilidade do IFA e do medicamento em cápsulas duras de 150 mg de FLU

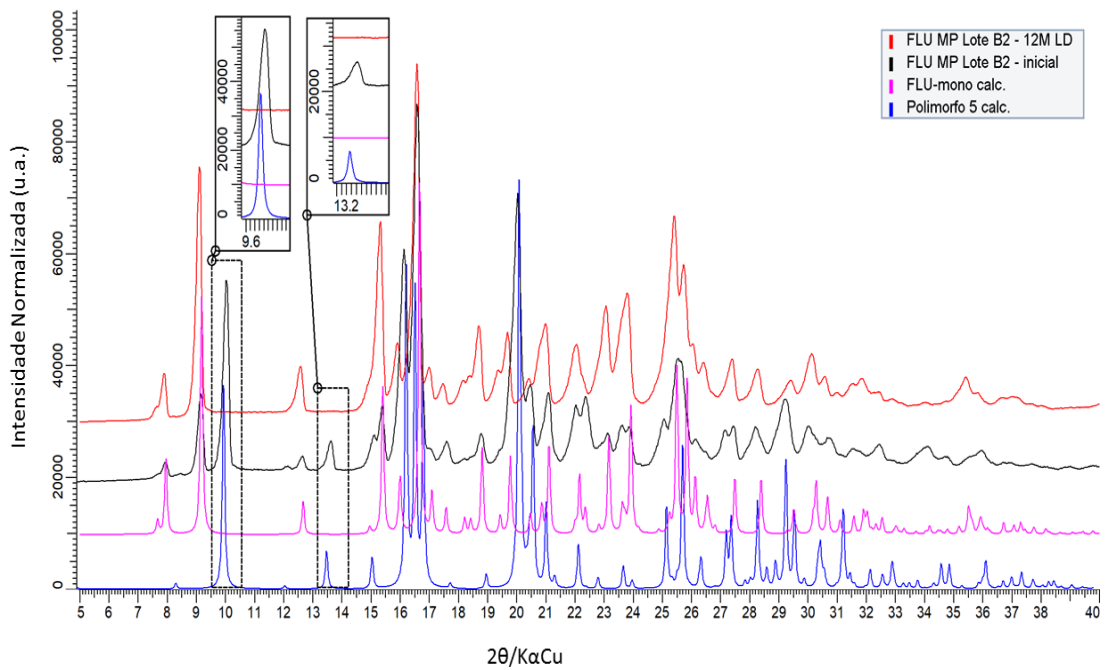
Os padrões de DRXP dos lotes 1 e 2 do fabricante B após serem submetidas a 12 meses de estudos de estabilidade em zona IV-b mostram que o FLU-5 presente majoritariamente nas amostras originais se converteu totalmente (lote 2) ou quase totalmente (lote 1) (Figura 33) no FLU-H<sub>2</sub>O, mostrando uma forte instabilidade do FLU-5 frente a umidade.

Resultados semelhantes foram observados quando foi avaliada a estabilidade do produto acabado de FLU (cápsulas duras de 150 mg). Os padrões de DRXP experimentais das amostras após 12 e 24 meses de incubação indicam total ou pelo menos quase completa conversão do FLU-5 em FLU-H<sub>2</sub>O (Figura 34). É importante destacar que os picos espúrios ao FLU-5 e/ou FLU-H<sub>2</sub>O presentes nos difratogramas experimentais são referentes ao placebo (Figura 35). A facilidade com que ocorre a hidratação do FLU-5 formando o FLU-H<sub>2</sub>O foi confirmada mais tarde na discussão dos estudos de solubilidade em equilíbrio e no processo de obtenção do FLU-H<sub>2</sub>O por mecanoquímica.

Figura 33 – Difratogramas experimentais da MP-FLU lotes (a) B1 (inicial e 12 meses estabilidade) e (b) B2 (inicial e 12 meses estabilidade) comparados aos difratogramas calculados a partir de dados de difração de raios X por monocristal do FLU-5 e FLU-H<sub>2</sub>O. Em que, os picos de Bragg referentes ao FLU-5 estão destacados pelas linhas tracejadas pretas e os picos característicos do FLU-H<sub>2</sub>O estão destacados pelas setas pretas.



(a)



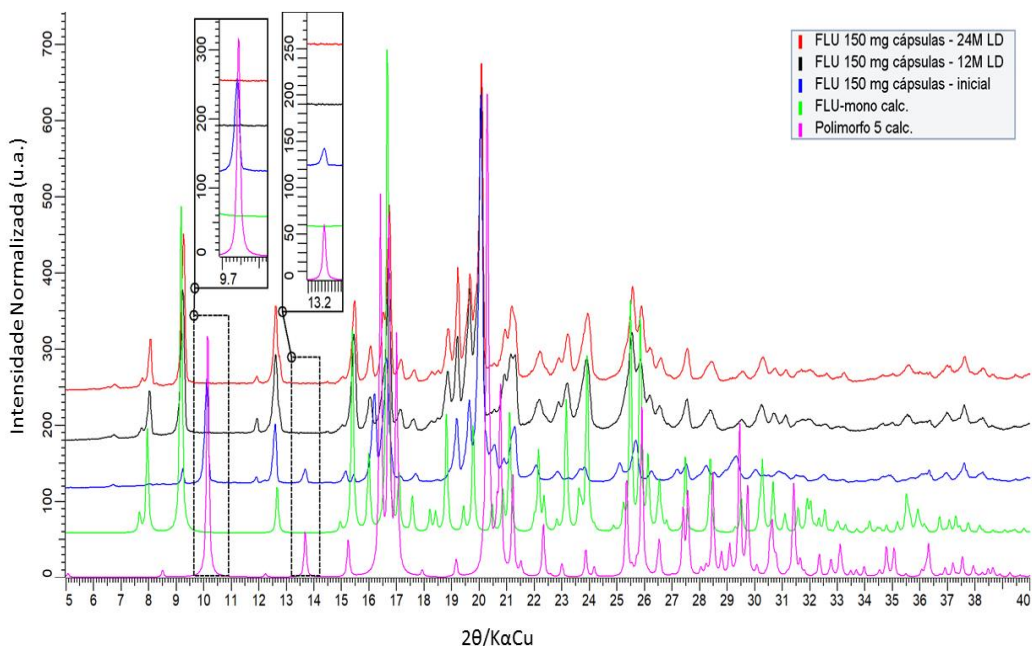
(b)

Fonte: Do autor.

Fortuitamente, conforme verificado no estudo de solubilidade em equilíbrio (*ver seção 5.2.8*), não há diferença significativa de solubilidade entre o FLU-5 e FLU-H<sub>2</sub>O havendo inclusive a conversão do FLU-5 durante o estabelecimento do equilíbrio. Portanto, apenas a solubilidade do FLU-H<sub>2</sub>O é determinável. Esses resultados mostram que a conversão parcial ou integral do FLU-5 para FLU-H<sub>2</sub>O em IFA ou formulações de FLU em tase não impactariam na biodisponibilidade do fármaco.

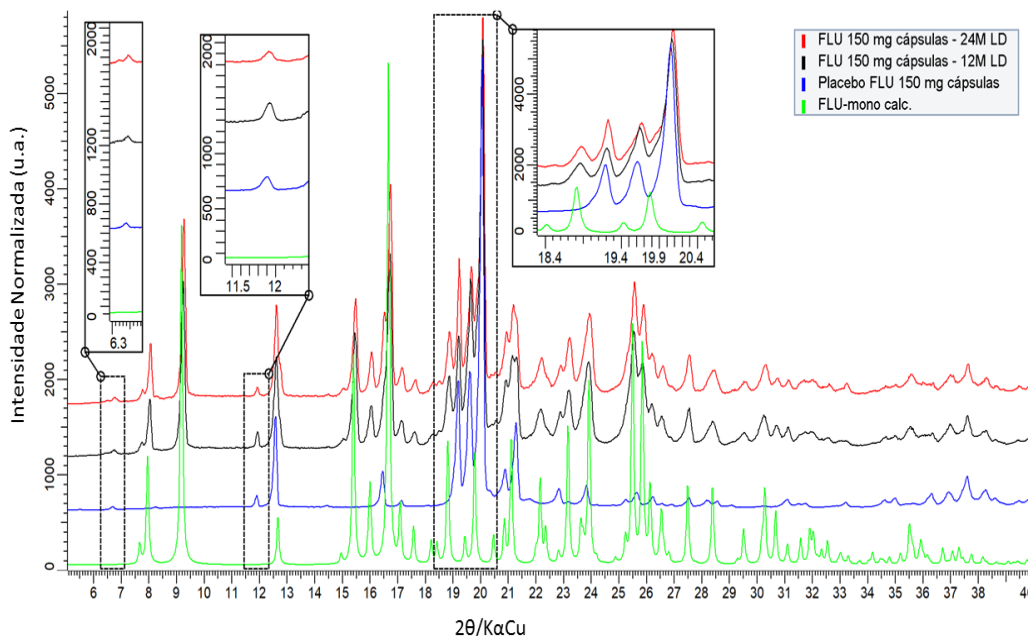
Por outro lado, a transição de fase pode impactar no processo produtivo do medicamento, uma vez que a formulação farmacêutica do tipo cápsula dura necessita de um fluxo de pó constante (o que depende da forma cristalina), para que o encapsulamento ocorra de maneira correta e sem desvios de qualidade. Em outras palavras, a hidratação do IFA pode levar a uma piora nas características de fluxo de pó durante o processo de encapsulamento, podendo gerar problemas de cunho farmacotécnico.

Figura 34 - Difratogramas experimentais do FLU cápsulas duras 150 mg nos tempos inicial, 12 e 24 meses de estabilidade comparados aos difratogramas calculados a partir de dados de difração de raios X por monocristal do FLU-5 e FLU-H<sub>2</sub>O, em destaque pelas linhas tracejadas pretas os picos de Bragg referentes ao FLU-5.



Fonte: Do autor.

Figura 35 - Difratomogramas experimentais do FLU cápsulas duras 150 mg nos tempos de 12 e 24 meses de estabilidade comparados aos difratogramas calculados a partir de dados de difração de raios X por monocristal do FLU-H<sub>2</sub>O e difratograma experimental do placebo, em destaque pelas linhas tracejadas pretas os picos de Bragg referentes ao placebo da formulação.



Fonte: Do autor.

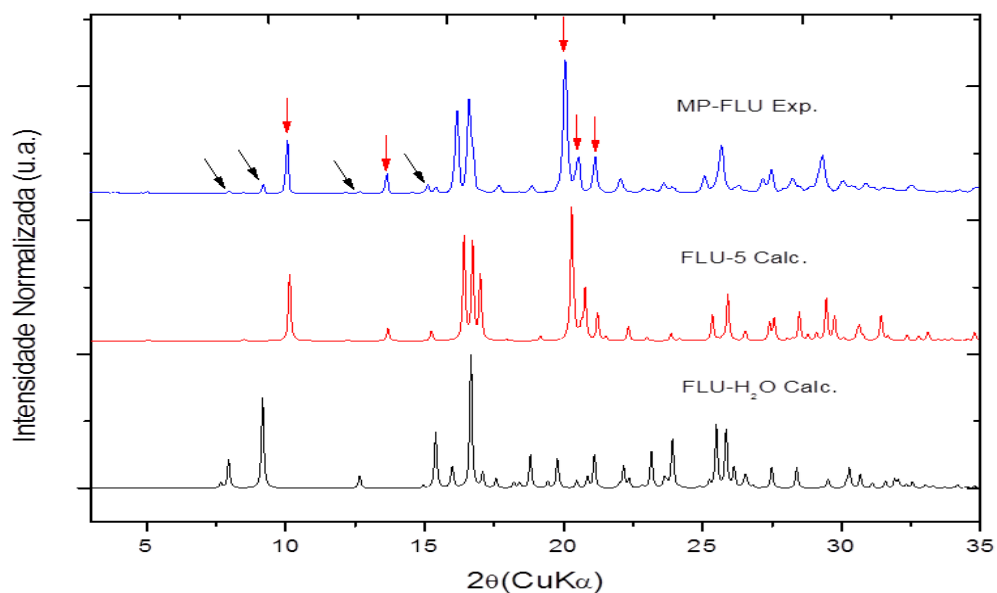
### 5.2.3 Caracterização da matéria-prima do FLU utilizada nos experimentos de recristalização

O padrão de DRXP experimental (Figura 36) da matéria-prima do FLU (a partir daqui MP-FLU) utilizada neste trabalho para o estudo de solubilidade e para a obtenção do FLU-H<sub>2</sub>O puro por moagem mecânica e do FLU-5 por aquecimento, mostra, a exemplo das matérias-primas A1, A2, B1 e B2 (*item 5.2.1*), picos de difração previstos para o FLU-H<sub>2</sub>O (e.g., 7,90, 9,16, 12,60 e 15,10° em 2θ) e para o FLU-5 (e.g., 10,10, 13,68, 20,08, 20,50 e 21,20° em 2θ) apontando para uma mistura binária de fases cristalinas do FLU.

A curva TG (Figura 37) do MP-FLU mostra uma perda de massa (~11%) que se inicia em torno 63 °C e termina em torno de 107 °C que não pode ser justificada apenas pela presença do FLU-H<sub>2</sub>O na matéria-prima uma vez que é um valor superior à calculada (5,55 %) considerando que a amostra tivesse apenas o FLU-H<sub>2</sub>O o que não é o caso, uma vez que o FLU - 5 também está presente. Portanto, a amostra provavelmente contém, também, água de adsorção. Por outro lado, a presença do FLU-H<sub>2</sub>O é evidenciada pelo pico endotérmico visto nas curvas DSC e DTA em torno de 104 °C observado para a amostra pura de FLU-H<sub>2</sub>O

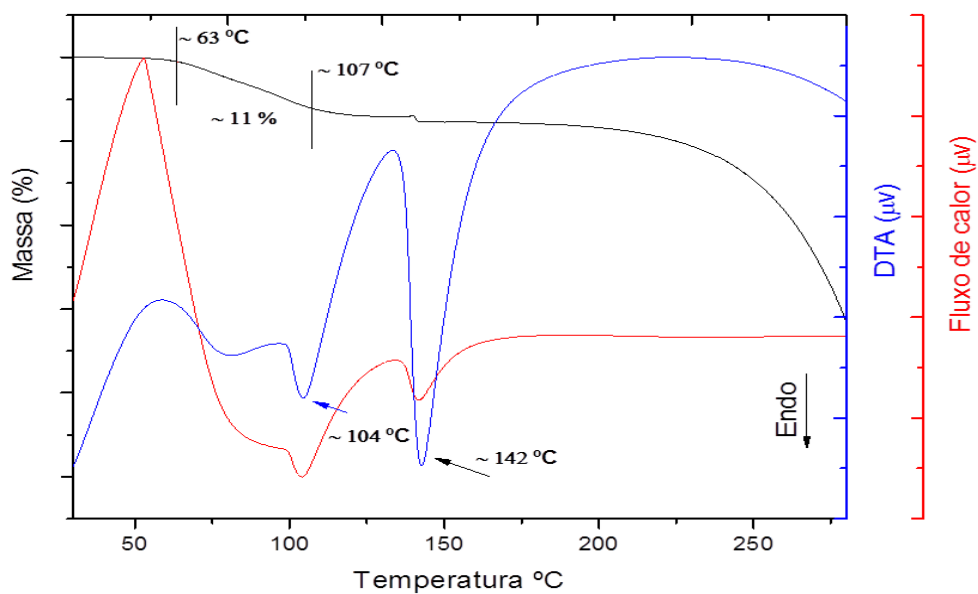
(seção 5.2.4, Figura 39). O evento em  $\sim 142$  °C corresponde à fusão do FLU-5 já presente na amostra, que foi comprovado pelos dados de DRXP, mais o formado a partir da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O, o que será mais bem discutido na seção 5.2.5.

Figura 36 - Difratoograma experimental da MP-FLU comparado aos difratogramas calculados do FLU-H<sub>2</sub>O e FLU-5. As setas pretas e vermelhas indicam alguns dos picos de difração correspondentes ao FLU-H<sub>2</sub>O e ao FLU-5, respectivamente.



Fonte: Do autor.

Figura 37 - Curvas de DSC e TG-DTA da MP-FLU.



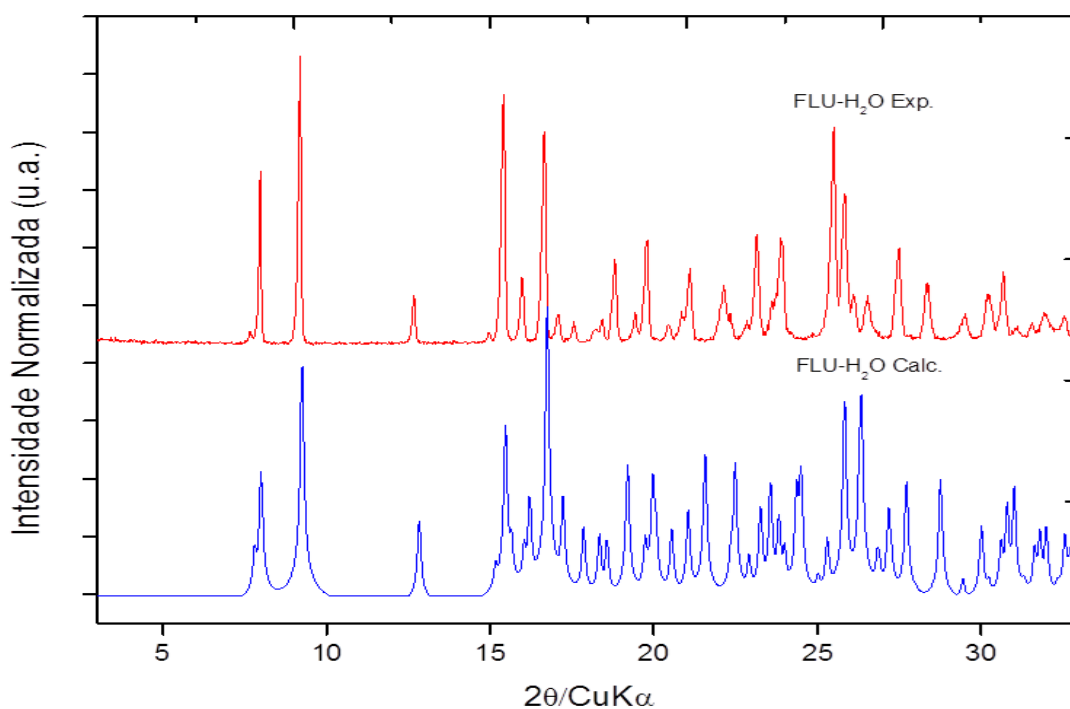
Fonte: Do autor.

#### 5.2.4 Caracterização do FLU-H<sub>2</sub>O obtido por moagem mecânica (mecanoquímica)

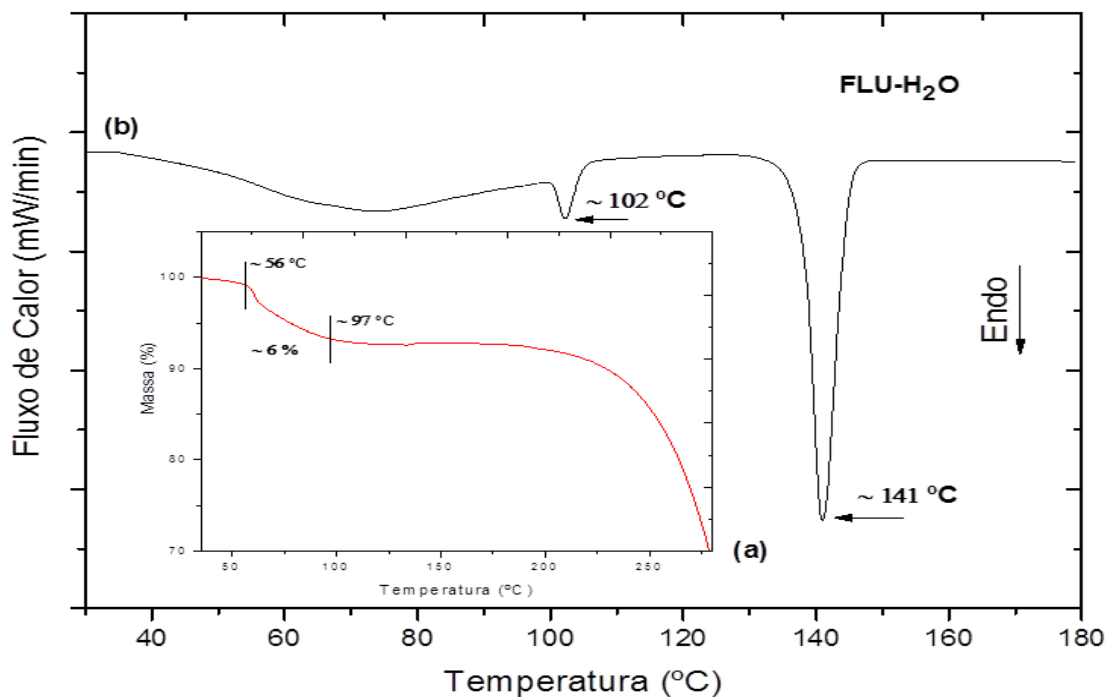
Os padrões de DRXP mostrados na Figura 38 indicam que o processo de moagem da MP-FLU (mistura FLU-H<sub>2</sub>O + FLU-5) sob adição de água (seção 3.4.2) levou, aparentemente, à completa conversão para o FLU-H<sub>2</sub>O.

A curva de TG (Figura 39) da MP-FLU após processo de moagem apresenta uma perda de massa de ~6% que se inicia (*T onset*) em aproximadamente 56 °C e termina em torno de 97 °C. A massa perdida pode ser atribuída à saída da água (massa teórica de 5,55 %) presente na estrutura do FLU-H<sub>2</sub>O. O processo de saída da água é perceptível na curva de DSC que mostra um evento endotérmico largo no mesmo intervalo de temperatura. O pico endotérmico estreito em 102 °C indica que a estrutura do FLU-H<sub>2</sub>O não colapsa concomitante ao processo de desidratação. O evento endotérmico em torno de 141 °C é atribuído à fusão da fase anidra, formada após o processo de desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O, o qual é comparável aos valores encontrados por CAIRA, et al. (2004) (137,9 °C) e ALKHAMIS, et al. (2002) (139,21 °C).

Figura 38 - Difratomogramas calculado (CIF: IVUQIZ) e experimental (obtido nesse trabalho por mecanoquímica) do FLU-H<sub>2</sub>O.



Fonte: Do autor.

Figura 39 - Curvas de TG (a) e DSC (b) do FLU-H<sub>2</sub>O.

Fonte: Do autor.

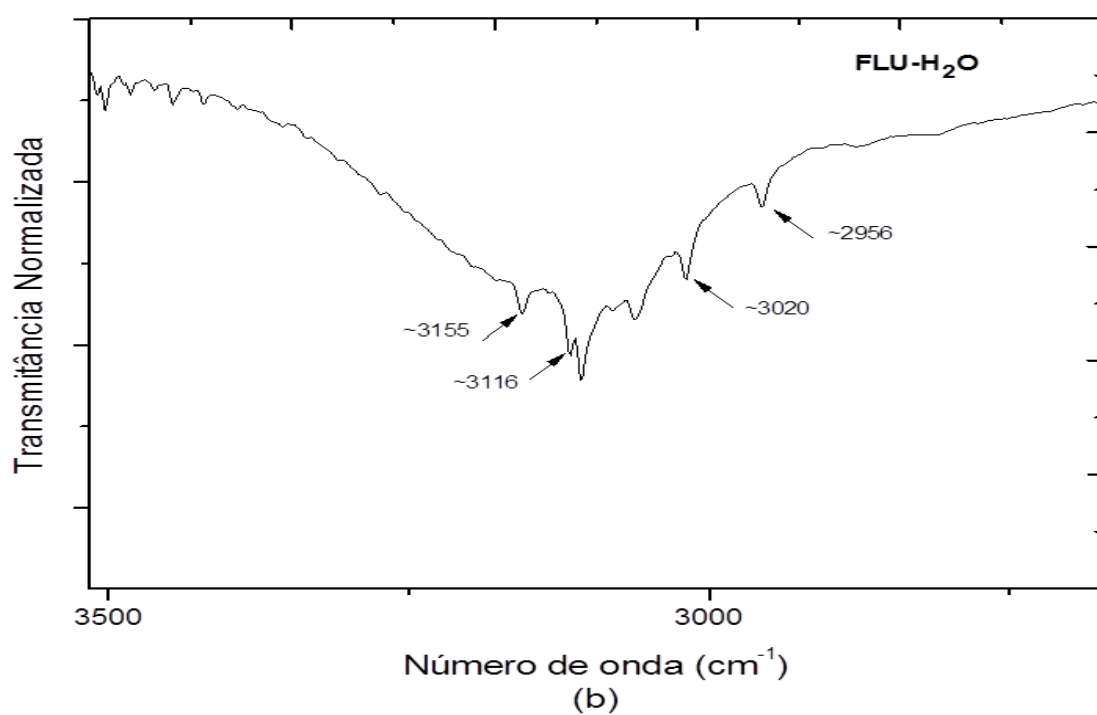
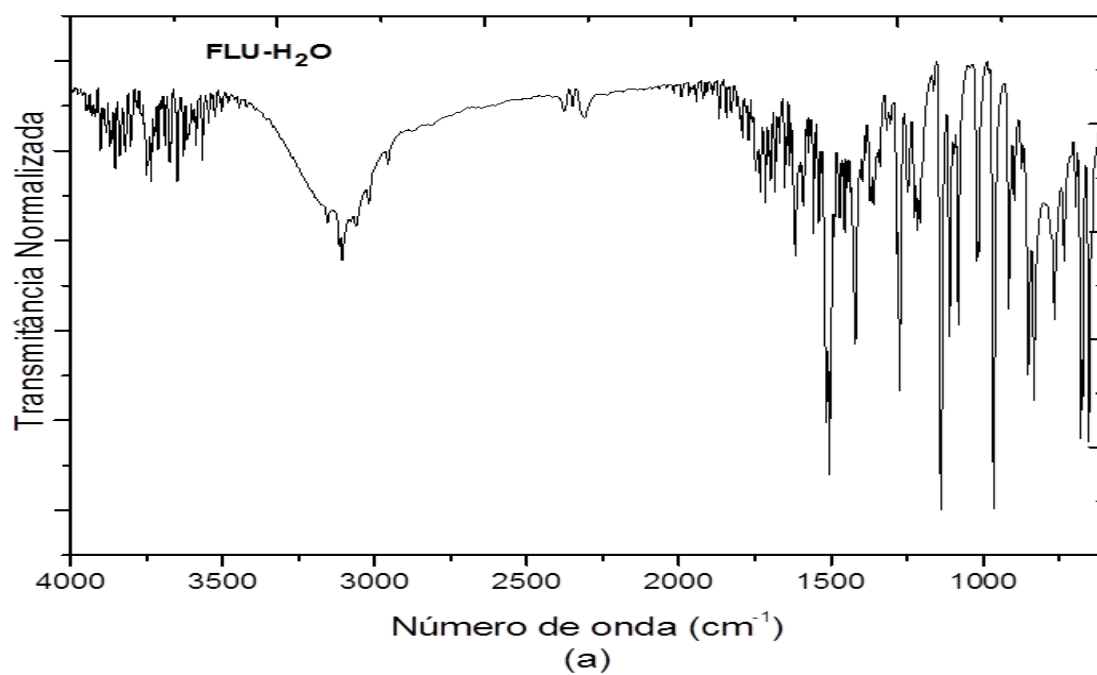
O espectro de IV do FLU-H<sub>2</sub>O (Figura 40), cujas principais bandas são compiladas no Quadro 8, é comparável aos previamente obtidos para essa forma na literatura (CAIRA, et al., 2004; ALKHAMIS, et al., 2002).

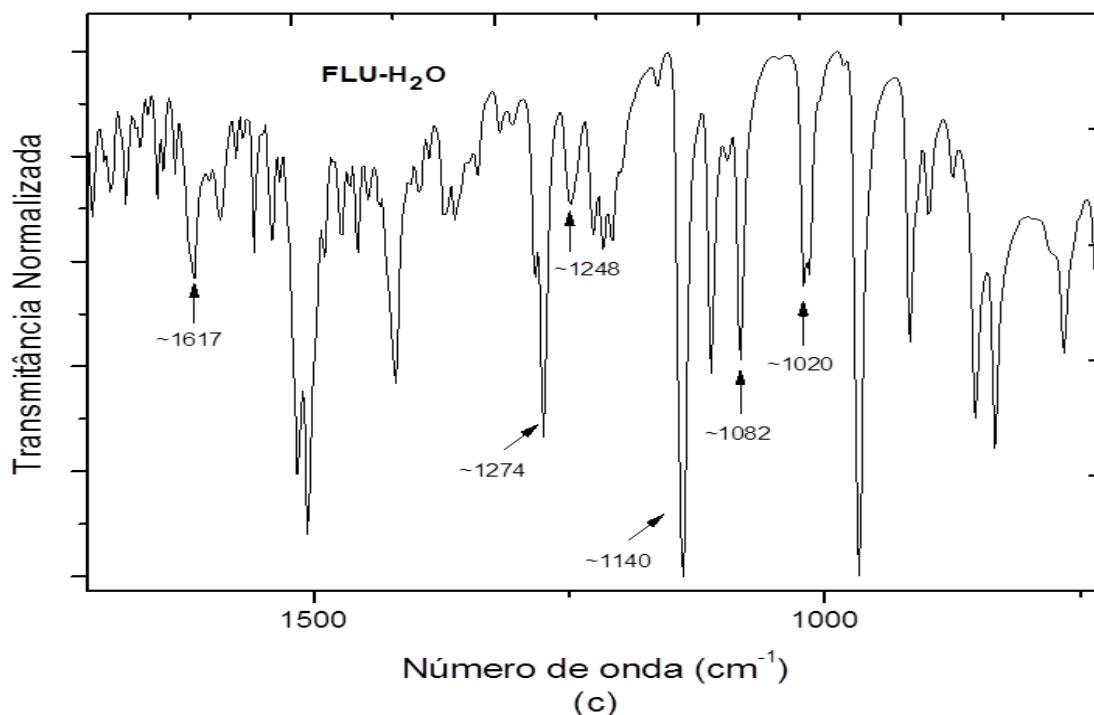
Quadro 8 - Atribuições e número de onda do espectro de infravermelho do FLU-H<sub>2</sub>O

| Atribuições                                   | Número de onda (cm <sup>-1</sup> ) |
|---|------------------------------------|
| Água  | ~3155                              |
| Estiramento CH do grupo triazol               | ~3116                              |
| Estiramento CH do grupo 2,4-difluorobenzil    | ~3020                              |
| Estiramento CH <sub>2</sub> de propano        | ~2956                              |
| Estiramento C=C do grupo 2,4-difluorobenzil   | ~1617                              |
| Estiramento CF do grupo 2,4-difluorobenzil    | ~1274                              |
| Estiramento do anel (CH, CN) do grupo triazol | ~1248                              |
| Deformação do anel do grupo triazol           | ~1140                              |
| Deformação CH do grupo 2,4-difluorobenzil     | ~1082                              |

Fonte: Do autor.

Figura 40 - Espectro de IV do FLU-H<sub>2</sub>O entre 4000-600 cm<sup>-1</sup> (a) e sua ampliação com indicação de frequências nas faixas entre 3500-2800 cm<sup>-1</sup> (b) e 1600-800 cm<sup>-1</sup> (c).





Fonte: Do autor.

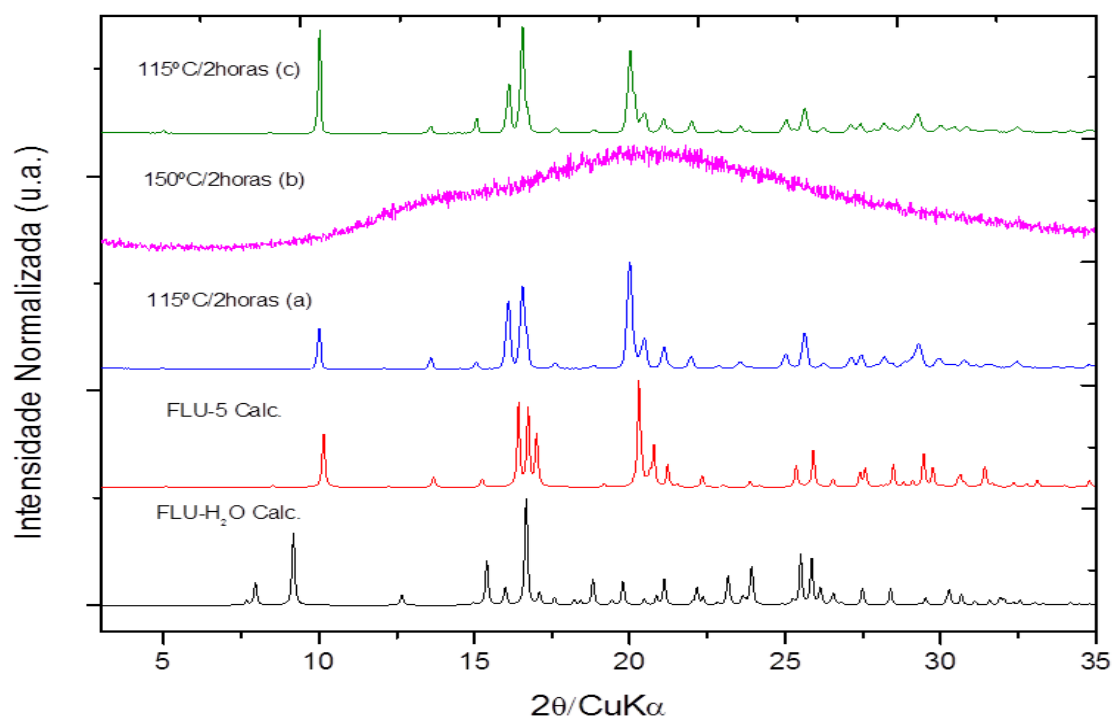
### 5.2.5 Formas sólidas obtidas a partir da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e da solidificação do FLU fundido

O estudo sistemático de transformações de fase apresentado a seguir envolvendo a desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e a solidificação/cristalização do FLU fundido foram motivados por trabalhos anteriores, envolvendo estudos de análise térmica de amostras de FLU (ALKHAMIS, et al., 2002; DESAI; SHAIKH; DHARWADKAR, 2003; DESAI; DHARWADKAR, 2009; MOURA, et al., 2010). A amostra de partida do nosso estudo foi o FLU-H<sub>2</sub>O obtido por mecanoquímica. As transições de fase foram induzidas por rampas de temperatura efetivadas em estufas ou em equipamento de análises térmicas e as fases formadas foram analisadas por DRXP, DSC e TG-DTA.

A Figura 41 apresenta os padrões de DRXP das fases obtidas a partir do FLU-H<sub>2</sub>O por meio dos procedimentos de aquecimento a 115 ou 150 °C por duas horas seguido de resfriamento até a temperatura ambiente. O padrão de DRXP do material após o primeiro aquecimento a 115 °C mostra que a desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O leva à formação do FLU-5 (picos característicos em 10,02, 20,02, 20,44, 21,06, e 25,62° em 2θ). O padrão de DRXP do sólido obtido após uma alíquota da fase anidra (FLU-5) formada a partir do FLU-H<sub>2</sub>O ser

levado à fusão (aquecimento a 150 °C por 2 horas) e posteriormente solidificado deixando-o retornar à temperatura ambiente, é característico de um material vítreo (amorfo). Finalmente, o padrão de DRXP do sólido obtido após uma alíquota do material amorfo ser reaquecido a 115 °C por 2 horas e depois retornado a temperatura ambiente, aponta mais uma vez para a formação do FLU-5. Portanto, o FLU-5 pode ser obtido tanto a partir da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O, quanto da fusão-solidificação-aquecimento do FLU. Estudos semelhantes já foram reportados na literatura (DESAI et al., 2003; DESAI et al., 2009) partindo-se não do FLU-H<sub>2</sub>O, mas de um dos polimorfos do FLU, identificado à época como sendo o polimorfo 1 (= polimorfo II = forma III) (GU & JIANG, 1995; CAIRA et al., 2003; KARANAM et al., 2012). Foi sugerido que o polimorfo obtido da solidificação/cristalização da fase líquida do FLU era o FLU-5, àquela época chamado de forma I (GU & JIANG, 1995) o que agora é corroborado pelos resultados obtidos nesse trabalho de doutorado. Por outro lado, surpreendentemente, até onde se tem conhecimento, não há estudos identificando o polimorfo formado a partir do FLU-H<sub>2</sub>O o que se deve provavelmente ao fato de a estrutura do FLU-5 ter sido determinada mais recentemente.

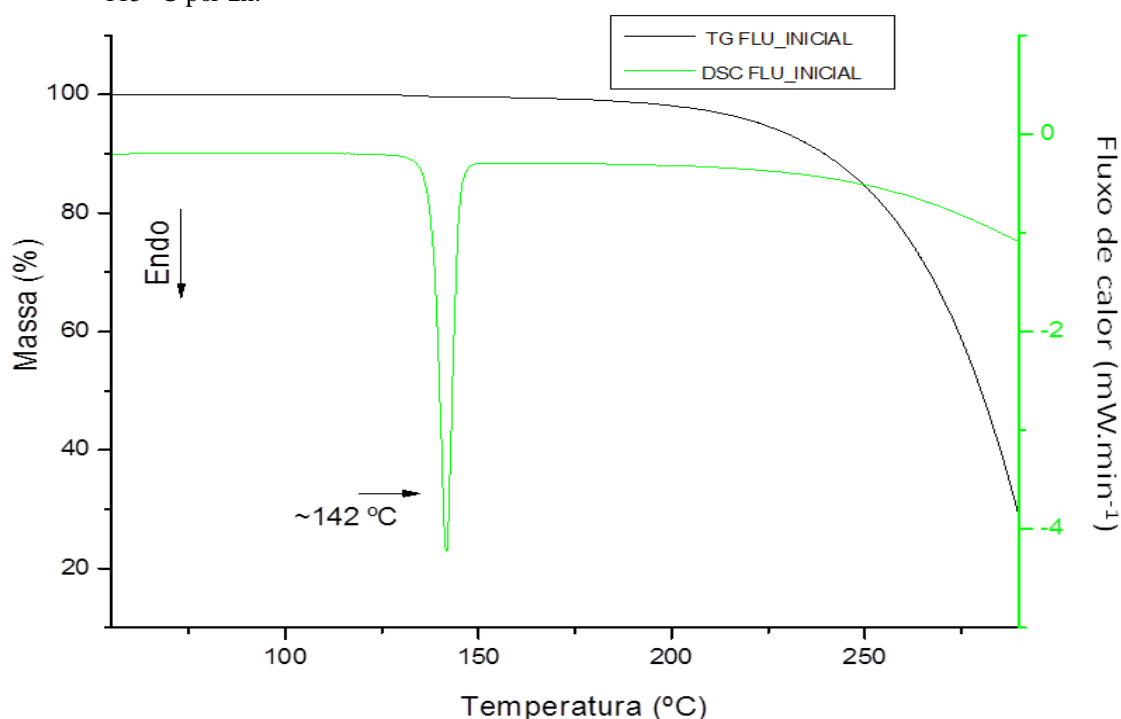
Figura 41 - Difratomogramas experimentais do estudo térmico do FLU-H<sub>2</sub>O comparados aos difratogramas calculados do FLU-H<sub>2</sub>O e FLU-5.



Fonte: Do autor.

Após realizar as medidas de DRXP os materiais das três amostras obtidas a partir do FLU-H<sub>2</sub>O foram também estudados por DSC e TG. As curvas DSC e TG da amostra de FLU-H<sub>2</sub>O utilizada como material de partida para os tratamentos térmicos foram previamente discutidas (seção 5.2.4, Figura 39). A curva de DSC (Figura 42) do material previamente aquecido a 115 °C observa-se apenas o pico endotérmico em 142 °C ( $T_{on set} = 130$  °C) referente à fusão do FLU-5 (KARANAM, et al., 2012). A ausência dos eventos adicionais presentes na Figura 39 e a ausência da perda de massa referente à saída de água na curva de TG confirmam que se teve êxito na desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e que não ocorreu reidratação quando a amostra é retornada a temperatura ambiente.

Figura 42 - Curvas de TG e DSC da forma anidra (FLU-5) obtida a partir do aquecimento prévio do FLU-H<sub>2</sub>O à 115 °C por 2h.



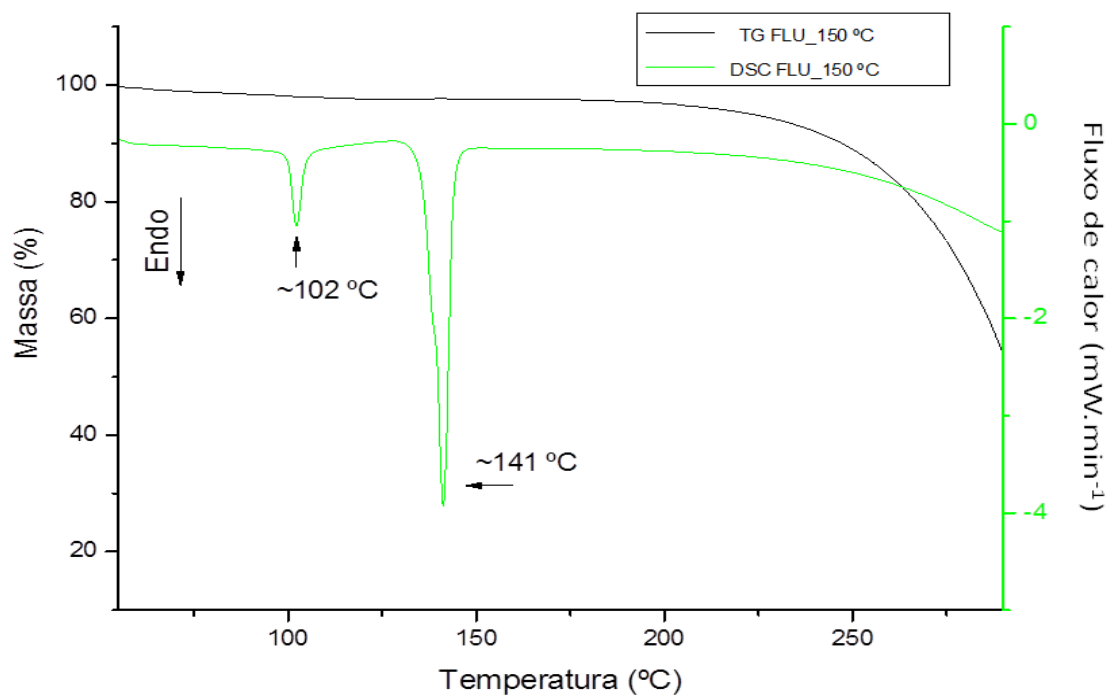
Fonte: Do autor.

De maneira surpreendente, a curva DSC (Figura 43) da forma amorfa do FLU (proveniente da solidificação do FLU fundido) não mostrou o pico exotérmico esperado para uma transição de fase sólida amorfo para fase cristalina, e sim pico endotérmico em ~102 °C indicando uma transição de fase sólido-sólido cristalino. É importante notar a semelhança da curva DSC do FLU fundido (Figura 43) com a do FLU-H<sub>2</sub>O (Figura 39), exceto pela presença do pico endotérmico largo associado à saída da água. A presença do pico endotérmico em

~102 °C sugere que a fase amorfa se converteu em uma fase anidra isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O (ver seção 5.2.7) antes de ser submetida ao experimento de DSC. Destaca-se que o experimento de DRXP (padrão notoriamente amorfo na Figura 41) foi realizado imediatamente após o resfriamento do sólido obtido a partir do FLU fundido. Por outro lado, o experimento de DSC foi conduzido dias depois por questões de agendamento do equipamento. Reforça a hipótese da nova fase com a estrutura do FLU-H<sub>2</sub>O, mas sem a água, pelo fato de a curva DSC apresentar o pico endotérmico de fusão do FLU-5 a ~141 °C ( $T_{on\ set} = 129\text{ °C}$ ) e a curva TG não mostrar perda de massa referente a água.

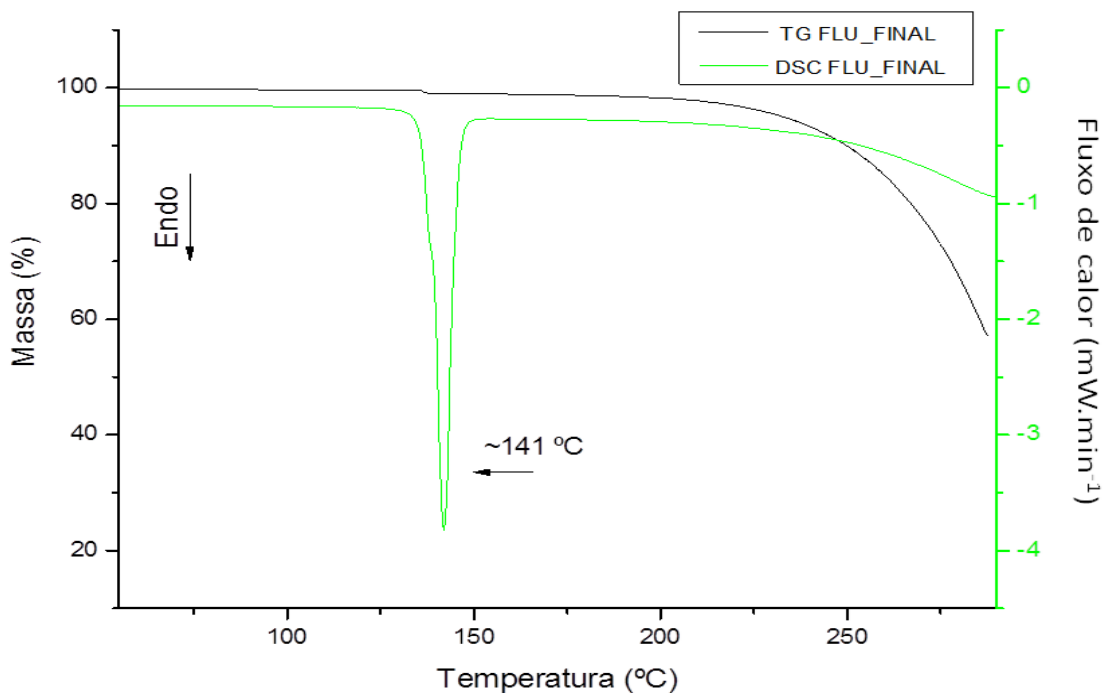
As curvas de DSC e TG do material amorfo do FLU previamente reaquecido a 115 °C (Figura 44) são semelhantes às do produto de desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O (Figura 39), o que leva a concluir tratar-se do FLU-5. Ou seja, a fase supostamente anidra, que na verdade se converteu durante a estocagem para uma provável forma anidra isomórfica do FLU-H<sub>2</sub>O, foi transformada durante o aquecimento *ex situ* a 115 °C no FLU-5 do FLU.

Figura 43 - Curvas de TG e DSC da forma “anidra” do FLU obtida a partir do FLU fundido a 150 °C.



Fonte: Do autor.

Figura 44 - Curvas de TG e DSC do FLU cristalino obtido a partir do aquecimento do FLU amorfo a 115 °C.



Fonte: Do autor.

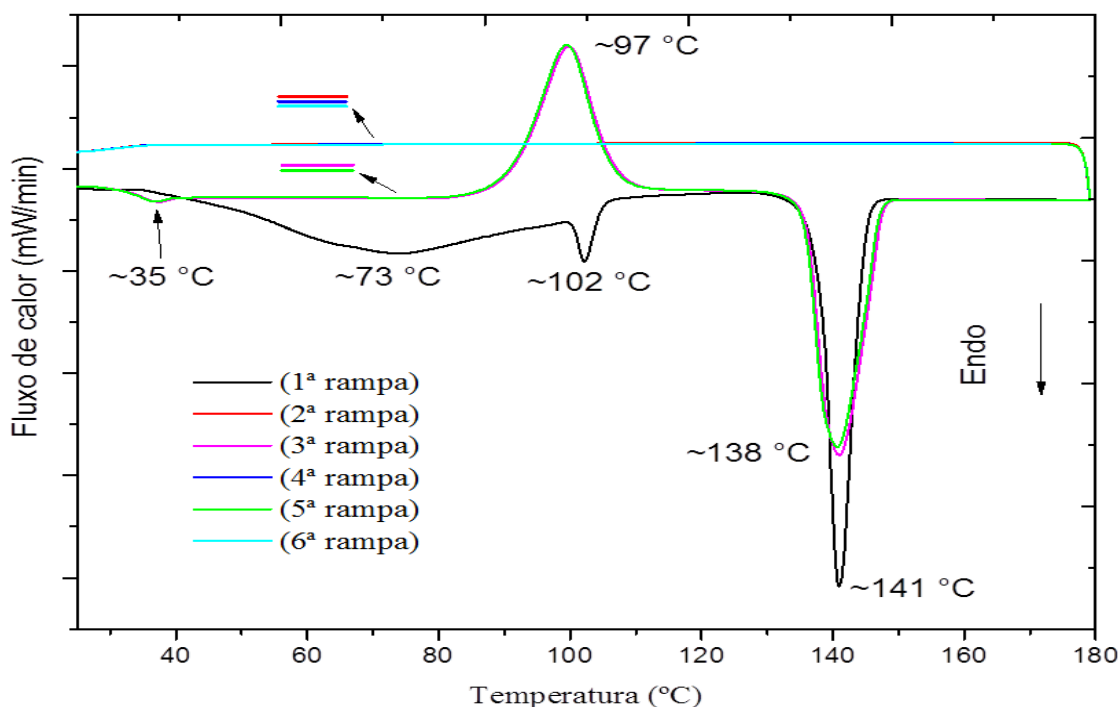
Esses resultados apresentados nesse item motivaram a realização de dois outros estudos: i) Um experimento de DSC cíclico partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O para verificar as transições de fase observáveis nas rampas de aquecimento e resfriamento mimetizando os protocolos que levaram a formação do FLU-5 (por desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e por solidificação do FLU líquido), da forma amorfa (dados de DRXP) e da forma anidra isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O (dados de DSC); ii) acompanhar a cinética de conversão do FLU amorfo na fase anidra isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O por meio de DRXP.

### 5.2.6 DSC cíclico partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O

A Figura 45 apresenta as curvas de DSC cíclicas (protocolo detalhado na seção 3.7.3 Quadro 5) partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O. A 1ª rampa (aquecimento até 180 °C) mostra os eventos de desidratação, transição de fase e fusão discutidas anteriormente considerando a Figura 39. A 2ª rampa (resfriamento até 25 °C) que acompanha o resfriamento do material fundido de FLU não mostra eventos que possam indicar alguma transição de fase líquido-sólido ou sólido-sólido sugerindo que FLU solidifica-se como um material amorfo. A 3ª rampa (reaquecimento até 180 °C) mostra um evento endotérmico a ~35 °C e um exotérmico ~97 °C

relacionados à transição do FLU amorfo para uma fase vítrea e dessa para uma fase cristalina, respectivamente (DESAI; SHAIKH; DHARWADKAR, 2003; MOURA, et al., 2010). Esse comportamento está de acordo com os padrões de DRXP mostrado na Figura 41 que mostraram a solidificação de uma fase amorfa a partir do FLU fundido e a cristalização do FLU-5 após o material amorfo ser aquecido até 115 °C. Contudo estão em desacordo com a curva DSC apresentada na Figura 43. Assim, confrontando as curvas do material amorfo fresco com o que ficou estocado por alguns dias, fica confirmado que ele é instável, vindo a se converter, possivelmente, na forma anidra do FLU isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O como discutido no item anterior. A 3ª rampa mostra por fim, um evento endotérmico a ~138 °C referente a fusão da fase cristalina formada durante esse ciclo. O fato de a temperatura ser muito próxima da observada para a fusão do anidrato obtido do FLU-H<sub>2</sub>O sugere que um mesmo polimorfo é formado a partir da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O e da solidificação do FLU fundido. Reforça a hipótese de um mesmo polimorfo ser formado nos dois processos, o fato de o pico endotérmico a ~104 °C na 1ª rampa, referente ao colapso da matriz estrutural das moléculas de FLU no FLU-H<sub>2</sub>O para formar um anidrato com estrutura distinta ser muito próxima da temperatura do evento exotérmico, referente a cristalização a partir da fase vítrea. Tudo isso, considerando ainda os resultados de DRXP apresentados na Figura 41, leva-se a concluir que a fase cristalina formada é o FLU-5. Contudo, é importante destacar que dados da literatura sugerem que mais de um polimorfo do FLU pode ser formado a partir do aquecimento do FLU amorfo/vítrea. Tais conclusões são baseadas no perfil do pico (pico alargado, ou pico com ombro a direita ou a esquerda, ou duplo pico) referente a fusão observada em curvas de DSC (DESAI; SHAIKH; DHARWADKAR, 2003; MOURA, et al., 2010; PARK, et al., 2007). No caso do pico de fusão observado na 3ª rampa há de fato certo alargamento em relação ao mesmo pico observado na 1ª rampa, o que poderia sugerir a fusão concomitante de duas fases ou uma se transformando na outra antes de fundir, como aventado pelos autores acima. A 4ª e a 6ª rampa são muito semelhantes a 2ª rampa enquanto a 5ª rampa se superpõe à 3ª rampa, indicando que as fases formadas durante as rampas 1 a 3 (...FLU-5 → FLU fundido → FLU amorfo → FLU vítrea → FLU-5...) são reproduzidas a cada ciclo.

Figura 45 - Curvas de DSC cíclico partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O com rampas de aquecimento/resfriamento detalhadas na seção 3.7.3, Quadro 5.

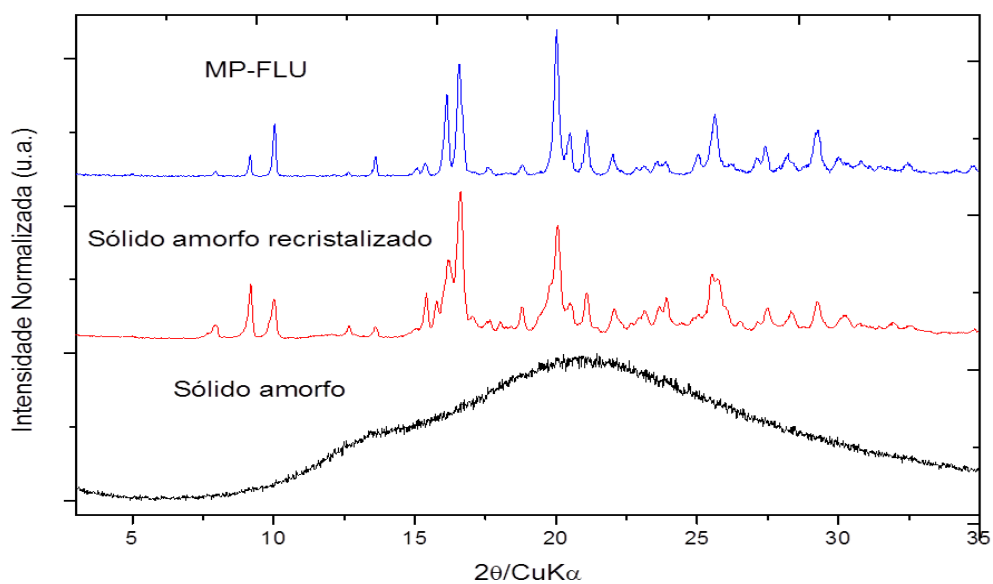


Fonte: Do autor.

### 5.2.7 Fases formadas e cinéticas de cristalização a partir da fase amorfa do FLU recém-preparada.

O padrão de DRXP experimental da amostra do FLU “amorfo” envelhecida (a mesma amostra usada para obter a curva DSC) apresentada na Figura 46 mostra grande semelhança com o padrão de DRXP experimental da matéria-prima utilizada nesse trabalho. Considerando que o padrão de DRXP da matéria-prima de FLU, aponta para uma mistura física do FLU-5 e do FLU-H<sub>2</sub>O (seção 5.2.3, Figura 36) poderia se concluir o mesmo em relação a amostra do FLU amorfo envelhecida. Entretanto, como as curvas DSC e TG não mostraram a presença de água na amostra, o que se tem é uma mistura do FLU-5 com uma forma anidra isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O que a partir daqui será chamada de FLU-10 dando sequência a numeração feita por KARANAM e colaboradores (KARANAM et al., 2012).

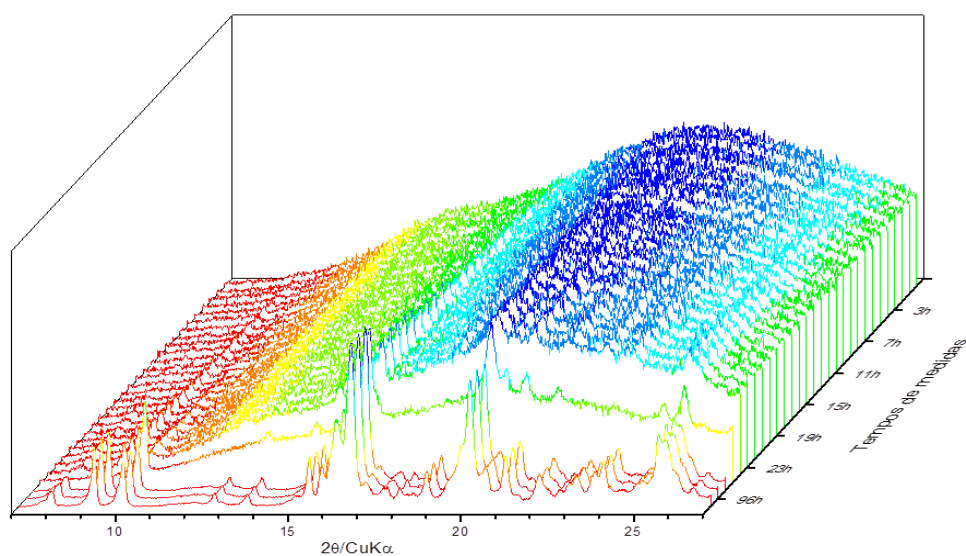
Figura 46 - Difratogramas experimentais do sólido amorfo e do recristalizado comparados ao difratograma experimental da MP-FLU.



Fonte: Do Autor.

Diante desses resultados, uma amostra fresca de FLU amorfa foi preparada e seu padrão de difração passou a ser coletado de tempos em tempos conforme descrito na *seção 3.10*. A Figura 47 mostra que já nas primeiras 12 horas começam a emergir picos de Bragg indicativos do início da transformação da fase amorfa para uma fase cristalina e que após 2 a 3 dias, a transformação é finalizada.

Figura 47 - Difratogramas experimentais mostrando a transição da fase amorfa do FLU (amostra fresca) para uma mistura do FLU-5 e FLU-10 em função do tempo (envelhecimento da amostra).



Fonte: Do autor.

### 5.2.8 Estudo de solubilidade em equilíbrio

As solubilidades em equilíbrio das quatro formas do FLU comparadas nesse estudo, matéria-prima (MP-FLU = FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O), FLU-H<sub>2</sub>O, FLU-5 e FLU-“amorfo” (= mistura FLU-5 + FLU-10), foram estabelecidas em 5 meios diferentes e em dois tempos diferentes, 12 e 24h. Aplicou-se o teste t pareado para avaliar se houve diferença estatística significativa das solubilidades em equilíbrio (comparando mesma forma e meio) realizadas após 12 ou 24h de agitação (Tabela 5). Considerando que o índice de confiança do teste t pareado é de 5% e que, portanto para que os dados sejam considerados estatisticamente diferentes o resultado P(T<=t) bicaudal deva ser inferior a 5% pode-se concluir que não houve diferença significativa das solubilidades em equilíbrio determinadas em 12h (Tabela 6) e 24h (Tabela 7). Ou seja, as formas sólidas do FLU atingem o equilíbrio termodinâmico em 12h de estudo. Como não há diferença estatística entre os tempos de 12 e 24h serão discutidos apenas os resultados obtidos para a solubilidade em equilíbrio no tempo de 24h, o qual é preconizado pela ANVISA em sua nota técnica (BRASIL, 2013).

Tabela 5 - Valores da Correlação de Pearson e P(T<=t) bi-caudal obtidos pelo teste t pareado para os estudos de solubilidade em equilíbrio das formas sólidas do FLU em 12 e 24h.

| Forma sólida          | MP-FLU | FLU-H <sub>2</sub> O | FLU-5  | Amorfo |
|-----------------------|--------|----------------------|--------|--------|
| Correlação de Pearson | 0,9996 | 0,9999               | 0,9998 | 0,9999 |
| P(T<=t) bi-caudal     | 10,36% | 77,46%               | 67,76% | 48,02% |

Fonte: Do autor.

O diagrama das frações molares das espécies pH-dependente do FLU (Figura 48) calculado, considerando os pka de 2,56, 2,94 e 11,01 (PFIZER, 2010; CORREA; VIANNA-SOARES; SALGADO, 2012) mostra que no intervalo de pH entre 0 a 3 prevalecem duas espécies ionizadas catiônicas do FLU (FLU<sup>+2</sup> e FLU<sup>+1</sup>) e em pH acima de 11 prevalece a espécie aniônica FLU<sup>-1</sup>. Assim, em uma grande faixa de pH (3-11) a espécie prevalente é a do FLU neutro (FLU<sup>0</sup>) o que explica a menor solubilidade do FLU em pH fisiológico.

Tabela 6 - Dados da solubilidade em equilíbrio (12h) das formas sólidas do FLU e os valores de  $pH_{final}$  dos diferentes meios.

| Forma sólida                  | MP-FLU<br>(g . L <sup>-1</sup> ) | FLU-H <sub>2</sub> O<br>(g . L <sup>-1</sup> ) | FLU-5<br>(g . L <sup>-1</sup> ) | Amorfo<br>(g . L <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------|----------------------------------|--|---------------------------------|----------------------------------|
| Água                          | 6,19 (+/-0,05)                   | 6,80 (+/-0,03)                                 | 6,19 (+/-0,15)                  | 6,19 (+/-0,08)                   |
| pH 6,8                        | pH <sub>f</sub> : 8,30           | pH <sub>f</sub> : 7,45                         | pH <sub>f</sub> : 6,90          | pH <sub>f</sub> : 7,53           |
| HCl 0,1 mol . L <sup>-1</sup> | 24,02 (+/-0,62)                  | 23,98 (+/-1,40)                                | 23,73 (+/-0,63)                 | 23,65 (+/-0,34)                  |
| pH 1,2                        | pH <sub>f</sub> : 1,53           | pH <sub>f</sub> : 1,07                         | pH <sub>f</sub> : 1,34          | pH <sub>f</sub> : 2,17           |
| Tampão Acetato pH             | 6,51 (+/-0,06)                   | 6,86 (+/-0,11)                                 | 6,23 (+/-0,22)                  | 6,16 (+/-0,06)                   |
| 4,5                           | pH <sub>f</sub> : 4,44           | pH <sub>f</sub> : 4,08                         | pH <sub>f</sub> : 4,66          | pH <sub>f</sub> : 4,83           |
| Tampão Fosfato pH             | 5,90 (+/-0,06)                   | 6,53 (+/-0,11)                                 | 6,11 (+/-0,11)                  | 5,94 (+/-0,03)                   |
| 5,8                           | pH <sub>f</sub> : 5,47           | pH <sub>f</sub> : 5,59                         | pH <sub>f</sub> : 5,62          | pH <sub>f</sub> : 5,37           |
| Tampão Fosfato pH             | 5,77 (+/-0,01)                   | 6,32 (+/-0,17)                                 | 5,87 (+/-0,10)                  | 5,64 (+/-0,11)                   |
| 7,2                           | pH <sub>f</sub> : 8,19           | pH <sub>f</sub> : 6,49                         | pH <sub>f</sub> : 7,00          | pH <sub>f</sub> : 7,71           |

Fonte: Do autor.

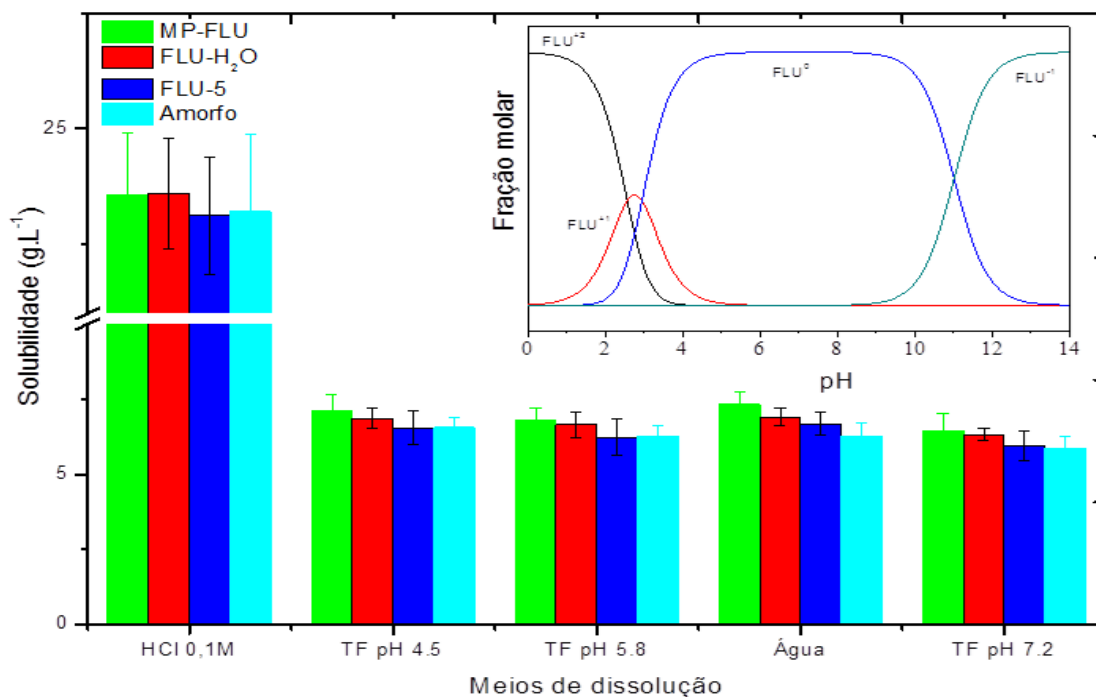
Tabela 7 - Dados da solubilidade em equilíbrio (24h) das formas sólidas do FLU e os valores de  $pH_{final}$  dos diferentes meios.

| Forma sólida      | MP-FLU<br>(g . L-1)    | FLU-H <sub>2</sub> O<br>(g . L-1) | FLU-5<br>(g . L-1)     | Amorfo<br>(g . L-1)    |
|-------------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|
| Água              | 7,34 (+/-0,43)         | 6,91 (+/-0,28)                    | 6,68 (+/-0,39)         | 6,26 (+/-0,45)         |
| pH 6,8            | pH <sub>f</sub> : 5,41 | pH <sub>f</sub> : 5,31            | pH <sub>f</sub> : 4,99 | pH <sub>f</sub> : 5,73 |
| HCl 0,1 mol , L-1 | 23,57 (+/-1,33)        | 23,60 (+/-1,20)                   | 23,12 (+/-1,27)        | 23,21 (+/-1,68)        |
| pH 1,2            | pH <sub>f</sub> : 2,23 | pH <sub>f</sub> : 2,92            | pH <sub>f</sub> : 2,60 | pH <sub>f</sub> : 2,58 |
| Tampão Acetato pH | 7,10 (+/-0,56)         | 6,87 (+/-0,34)                    | 6,55 (+/-0,55)         | 6,56 (+/-0,33)         |
| 4,5               | pH <sub>f</sub> : 5,24 | pH <sub>f</sub> : 5,13            | pH <sub>f</sub> : 5,06 | pH <sub>f</sub> : 4,09 |
| Tampão Fosfato pH | 6,79 (+/-0,40)         | 6,65 (+/-0,42)                    | 6,24 (+/-0,59)         | 6,25 (+/-0,39)         |
| 5,8               | pH <sub>f</sub> : 5,42 | pH <sub>f</sub> : 5,82            | pH <sub>f</sub> : 5,41 | pH <sub>f</sub> : 6,45 |
| Tampão Fosfato pH | 6,46 (+/-0,56)         | 6,32 (+/-0,20)                    | 5,96 (+/-0,49)         | 5,88 (+/-0,37)         |
| 7,2               | pH <sub>f</sub> : 7,68 | pH <sub>f</sub> : 7,53            | pH <sub>f</sub> : 7,59 | pH <sub>f</sub> : 7,68 |

Fonte: Do Autor.

Os valores de pH final ( $pH_f$ ) também são mostrados na Tabela 7, ilustrando somente pequenas variações, considerando diferentes formas em um mesmo meio. Já os valores de  $pH_f$  entre os diferentes meios não variaram significativamente considerando o pH inicial ( $pH_i$ ) de cada um deles, mostrando que a dissolução do FLU exerce pouca influência no pH da solução.

Figura 48 - Solubilidade em equilíbrio para as formas sólidas do FLU (24h). Compilados da Tabela 7.



Fonte: Do autor.

Comparando os dados de  $pH_f$  entre os dois tempos de estudo pode se notar uma leve diferença entre os dois. Em que no tempo de 24h a variação em relação ao  $pH_i$  é maior, indicando que após estabelecido o equilíbrio (12h) a tendência é que os valores de pH sofram maior influência das formas sólidas em estudo. Mesmo havendo essa diferença nos  $pH_f$ , os valores de solubilidade não foram diferentes entre os tempos. Este resultado pode levantar uma discussão quanto à normalização imposta pela ANVISA em sua nota técnica (BRASIL, 2013) quanto ao tempo de avaliação de solubilidade em equilíbrio. Pois, como visto para as formas sólidas do FLU, o equilíbrio pode ser atingido em tempos inferiores aos preconizados (24 e 48h) e após estabelecido o equilíbrio os valores de  $pH_f$  podem ser influenciados pelas formas sólidas avaliadas e com isso gerar dados de solubilidade em equilíbrio não confiáveis e/ou falsos.

Os valores de solubilidade do FLU estabelecidos em água (Tabela 7 e Figura 48) mostram uma solubilidade ligeiramente aumentada da MP-FLU em comparação às solubilidades do FLU-H<sub>2</sub>O, FLU-5 e FLU-amorfo e que se mostram equivalentes. Os valores obtidos no presente trabalho são aproximadamente 50% maiores dos encontrados por Alkhamis, et al. (2002) para as formas que esses autores designaram como forma I (= FLU-5), forma II (= polimorfo 7), forma monohidratada (=FLU-H<sub>2</sub>O) e sólido amorfo, os quais foram

de 4,29, 4,60, 3,56, 5,20 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. A diferença observada pode estar relacionada às temperaturas em que os experimentos foram realizados. Os dados da literatura foram obtidos a 25(+/-1) °C (ALKHAMIS, et al., 2002) e os do presente trabalho à 37(+/-1) °C seguindo nota técnica da ANVISA (BRASIL, 2013).

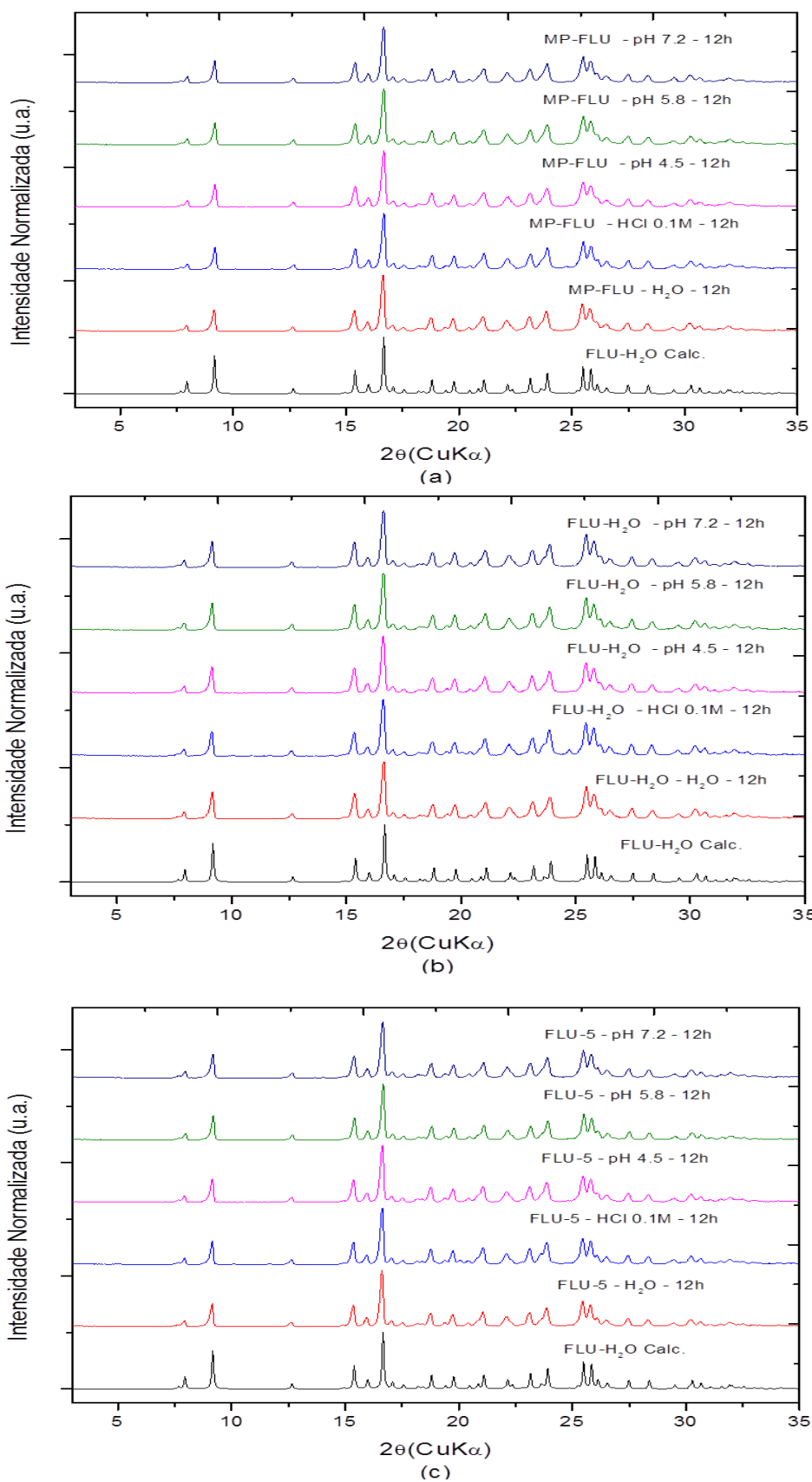
A solubilidade das formas do FLU em água foi também estudada em outros dois trabalhos, sendo encontrados os seguintes valores: 5,25 g.L<sup>-1</sup> (amostra: mistura FLU-H<sub>2</sub>O + FLU-5, PARK, et al., 2007), 4,21 g.L<sup>-1</sup> (amostra: FLU-H<sub>2</sub>O, PARK, et al., 2010), 5,25 g.L<sup>-1</sup> (amostra: FLU-5, PARK, et al., 2007), 4,96 g.L<sup>-1</sup> (amostra: FLU-5, PARK, et al., 2010), 5,39 g.L<sup>-1</sup> (amostra: polimorfo 7, PARK, et al., 2007) e 6,59 g.L<sup>-1</sup> (amostra: polimorfo 7, PARK, et al., 2010). Os valores apresentados também são inferiores aos encontrados no presente trabalho, exceto pelo valor de 6,59 g.L<sup>-1</sup> encontrado para o polimorfo 7 (PARK, et al., 2010) o que foi atribuído a transição de fase (do polimorfo 7 para o FLU-H<sub>2</sub>O) durante o experimento.

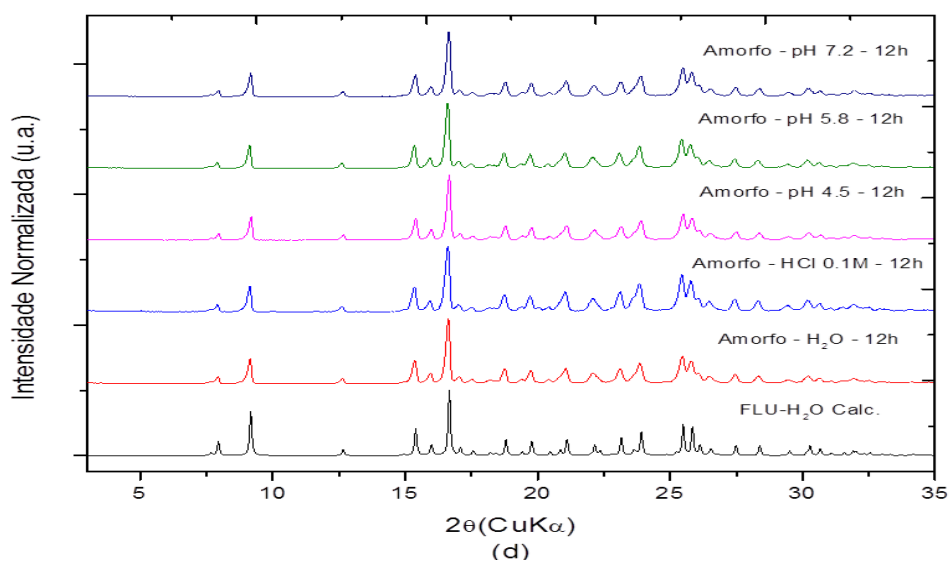
Observa-se que os valores de solubilidade estabelecidos nos meios tamponados pH 4,5, 5,8 e 7,2 não tiveram variações significativas comparadas às determinadas em água (pH<sub>f</sub> entre 6,9 e 8,3) comparando uma mesma forma nos diferentes meios. Isso se explica pelo fato de todos esses meios terem levado a um pH<sub>f</sub> dentro da faixa de pH (pH entre 3 a 11) em que a espécie de FLU presente em solução será somente a FLU<sup>0</sup> (Figura 48).

Como esperado, os valores de solubilidade encontrados para as formas sólidas do FLU em HCl mol.L<sup>-1</sup> (~24 g.L<sup>-1</sup>) são em média 3,85 vezes maiores que os outros meios em estudo devido a formação das espécies mais solúveis de FLU<sup>+</sup> e FLU<sup>2+</sup> (Figura 48) nas soluções de equilíbrio (pH<sub>f</sub> entre 2,2 a 2,9, Tabela 7). Destaca-se que não houve variação com significado estatístico entre os quatro sólidos estudados nesse meio.

Após os estudos de solubilidade em equilíbrio (12 e 24h) foram realizadas análises de DRXP para o pó remanescente aos estudos. Como pode se ver nas Figuras 49 (a, b, c e d) para o estudo de solubilidade em equilíbrio de 12h e nas Figuras 50 (a, b, c e d) para o estudo de 24h.

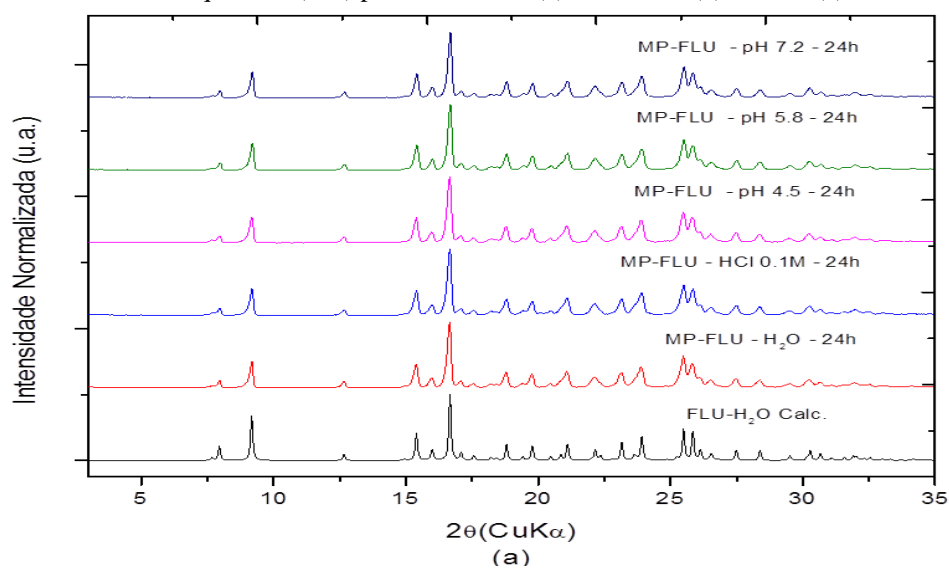
Figura 49 - Padrões de DRXP do material policristalino em equilíbrio com a as soluções usadas no estudo de solubilidade em equilíbrio (12h) para a MP-FLU (a), FLU-H<sub>2</sub>O (b), FLU-5 (c) e amorfo (d).

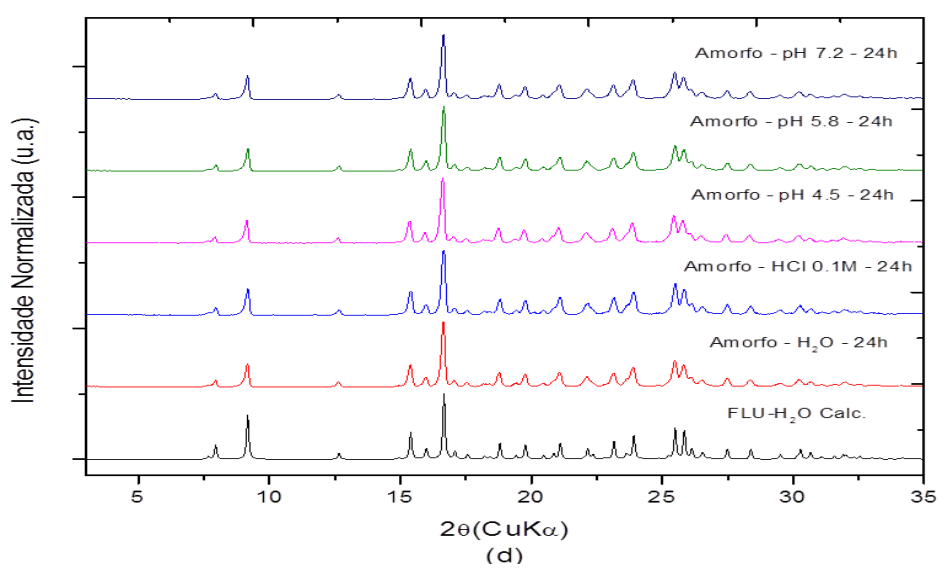
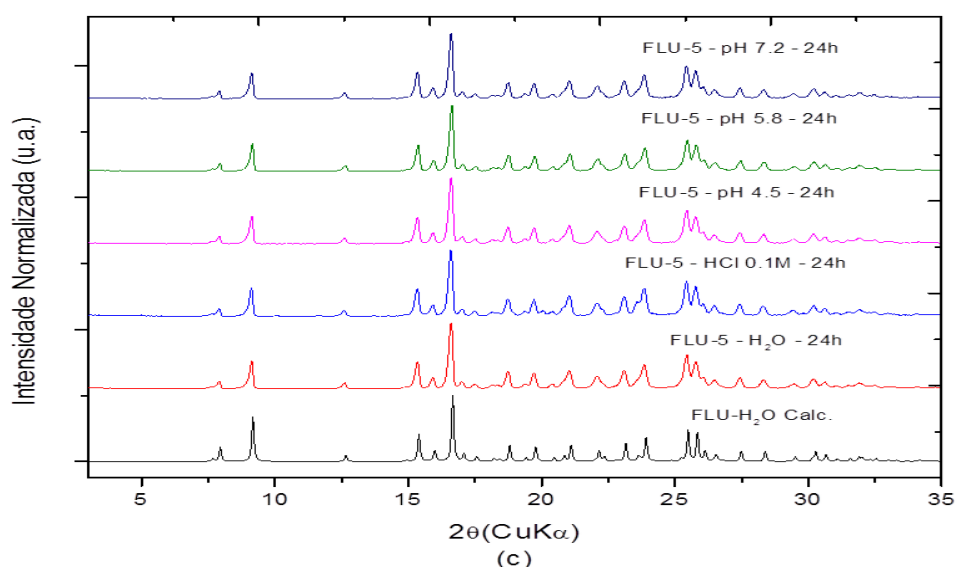
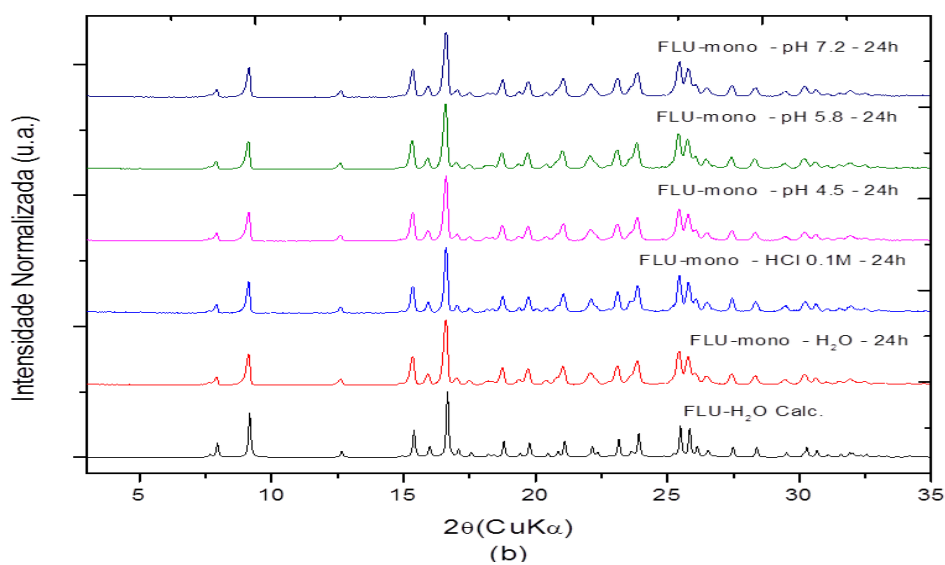




Fonte: Do autor.

Figura 50 - Padrões de DRXP do material policristalino em equilíbrio com a as soluções usadas no estudo de solubilidade em equilíbrio (24h) para a MP-FLU (a), FLU-H<sub>2</sub>O (b), FLU-5 (c) e amorfo (d).





Fonte: Do autor.

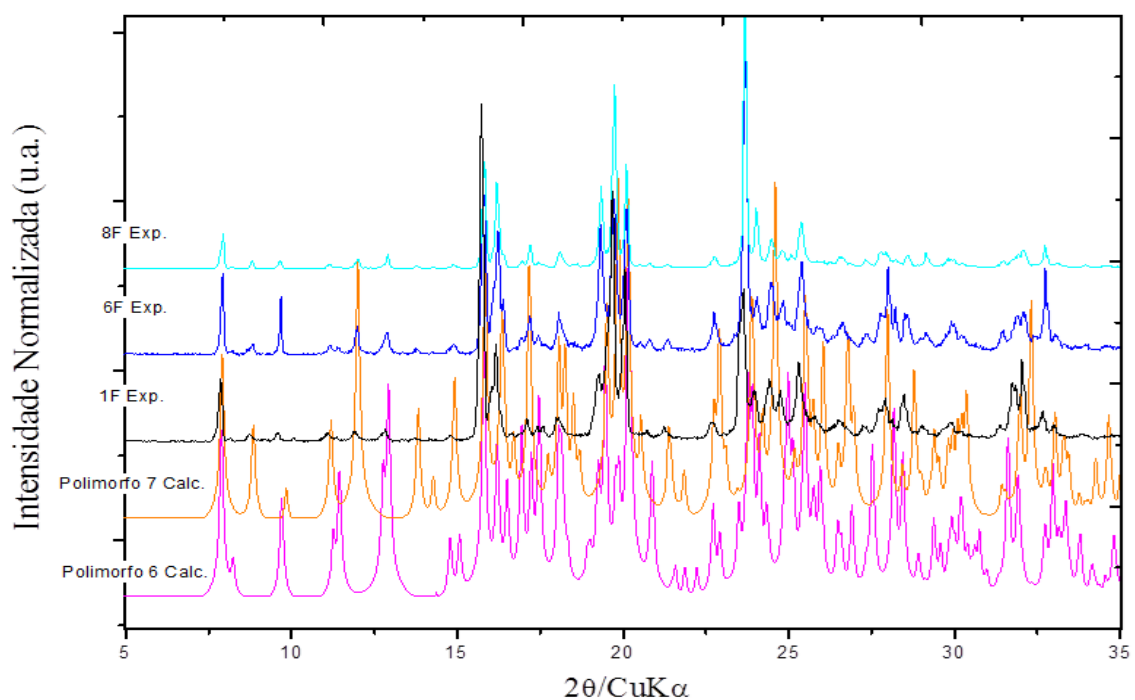
Os padrões de difração após os estudos de solubilidade em equilíbrio (12 e 24h) mostram que houve total conversão de todas as formas sólidas e em todos os meios de dissolução para o FLU-H<sub>2</sub>O. Essa conversão observada, indica que os valores de solubilidade em equilíbrio encontrados para o MP-FLU, FLU-5 e FLU-amorfo são irreais e correspondem à solubilidade do FLU-H<sub>2</sub>O, o que justifica as solubilidades das diferentes fases comparadas em um mesmo meio terem sido equivalentes. Esse estudo sugere que não há diferenças em termos de solubilidade se for usado como IFA o FLU-H<sub>2</sub>O puro ou o FLU-5 puro ou a mistura dos dois. Entretanto, é necessário identificar qual é a fase e as porcentagem delas no IFA, para se estabelecer a real dosagem de FLU (100% de FLU se for totalmente anidra) e (94% de FLU se for o FLU-H<sub>2</sub>O).

### **5.2.9 Obtenção e caracterização das formas sólidas do FLU**

As amostras policristalinas obtidas através dos processos de recristalização descritos na seção 3.4.1, Quadro 4 foram caracterizadas utilizando as técnicas de DRXP como descrito na seção 3.6.2. A Figura 51 mostra os padrões de DRXP experimentais dos sólidos policristalinos obtidos a partir das recristalizações 1F, 6F e 8F (seção 3.4.1, Quadro 4) comparados aos padrões de DRXP calculados a partir de dados de DRXM dos polimorfos 6 e 7 do FLU. Os dados experimentais obtidos para as três recristalizações possuem grande similaridade indicando que a mesma fase ou mistura de fases foi obtida com os diferentes protocolos de cristalização. A comparação dos difratogramas experimentais com os calculados dos polimorfos 6 e 7 indicam uma possível mistura dessas duas fases. A cristalização concomitante desses dois polimorfos poderia advir da semelhança de seus empacotamentos (Figura 52) e, conseqüente, pequena diferença da energia de suas redes, tornando mais difícil a obtenção de um *bulk* puro em termos de fase polimórfica.

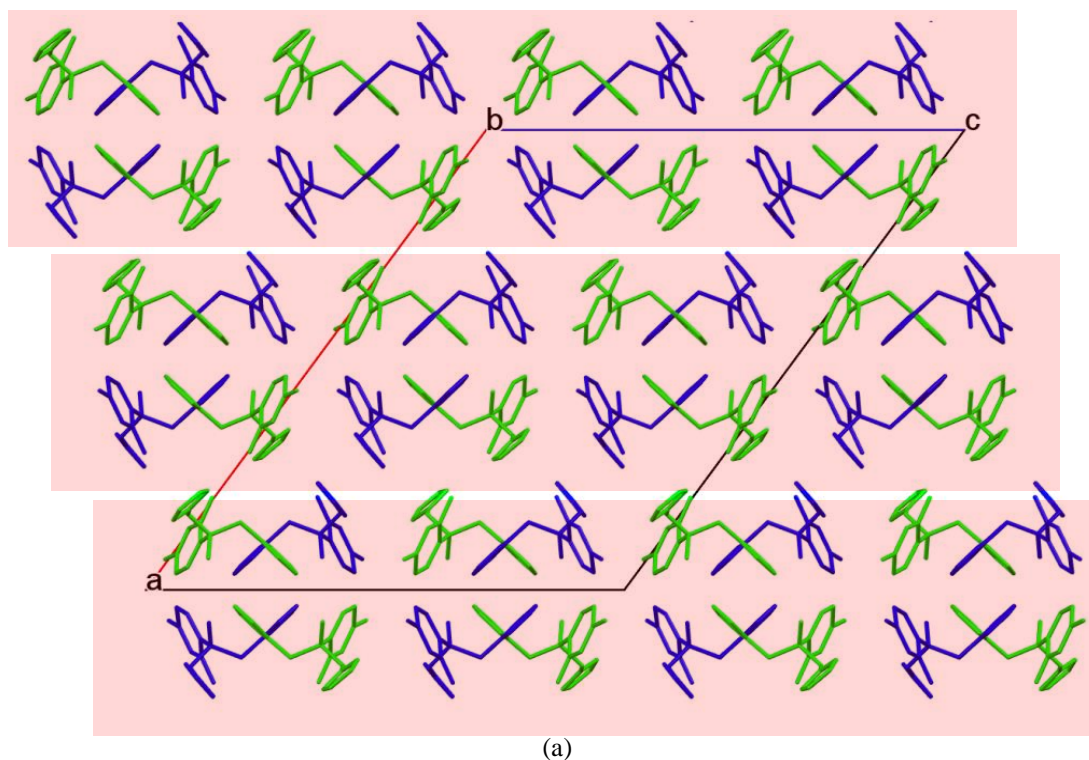
Por outro lado, amostra 7F aparenta conter apenas o polimorfo 7 do FLU (Figura 53) indicando que as variações nas condições de recristalização (uso da MP-FLU previamente aquecida a 105 °C) para a obtenção dessa amostra, proporcionou a obtenção de um *bulk* contendo apenas um polimorfo.

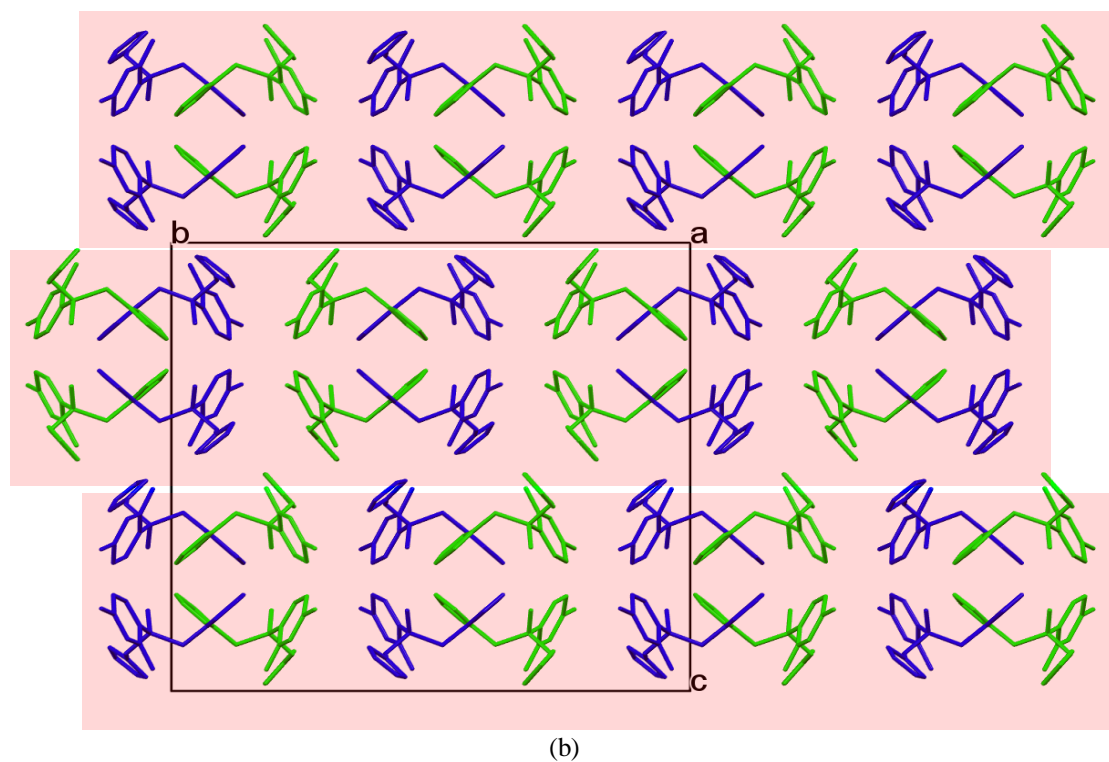
Figura 51 - Difratoformas experimentais das amostras 1F, 6F e 8F comparados aos padrões de DRXP calculados dos polímeros 6 (IVUQOF03) e 7 (IVUQOF04) do FLU (KARANAM et al. 2012).



Fonte: Do autor.

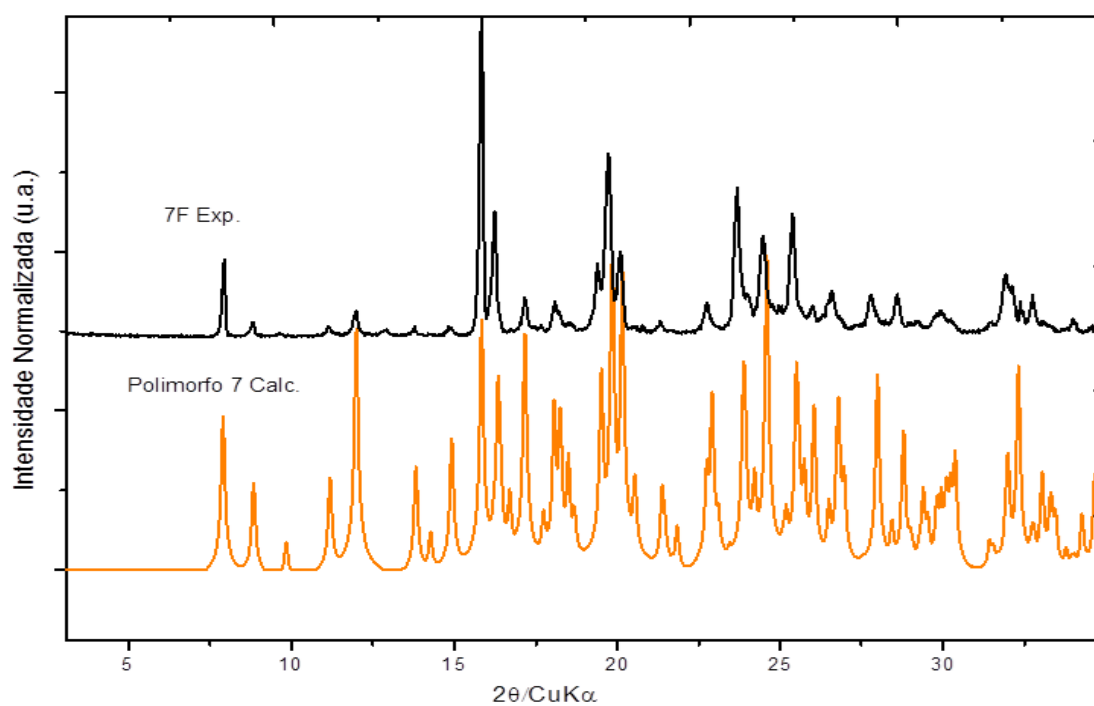
Figura 52 - Comparação dos empacotamentos dos polímeros (a) 6 (IVUQOF03) e (b) 7 (IVUQOF04) do FLU visto de forma normal (perpendicular) a seus respectivos planos cristalográficos *ac* e *bc* (KARANAM et al. 2012).





Fonte: Do autor.

Figura 53 - Difratoograma experimental da amostra 7F comparada ao padrão de DRXP calculado do polimorfo 7 (IVUQOF04) do FLU (KARANAM et al. 2012).

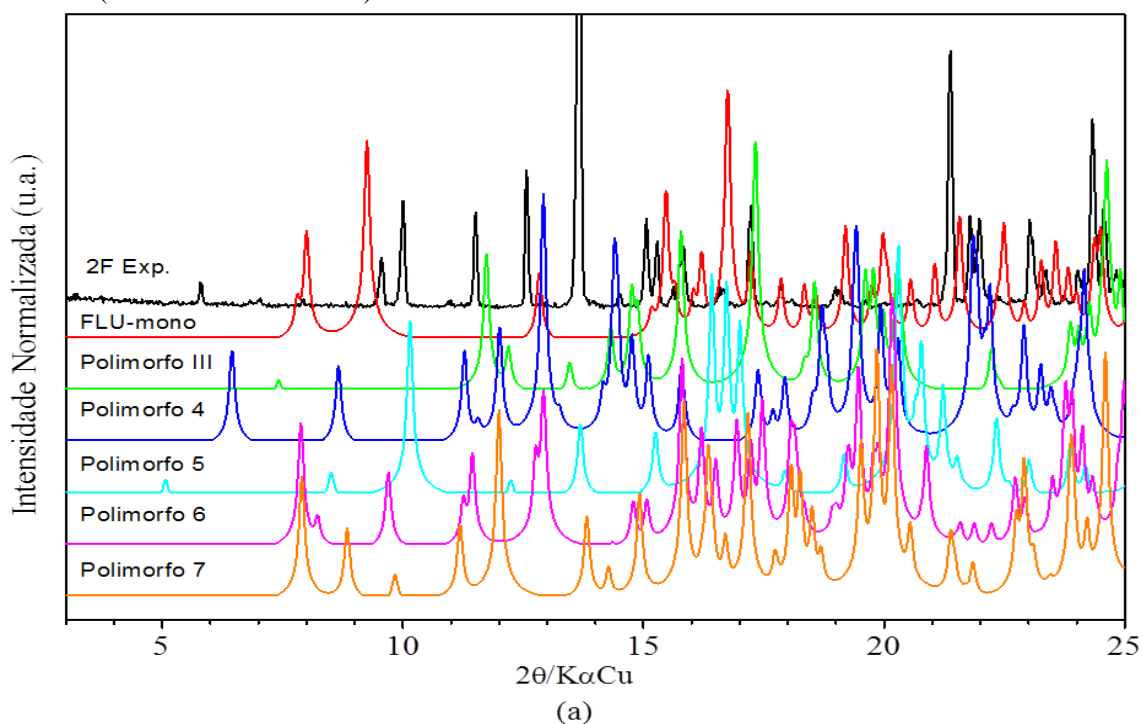


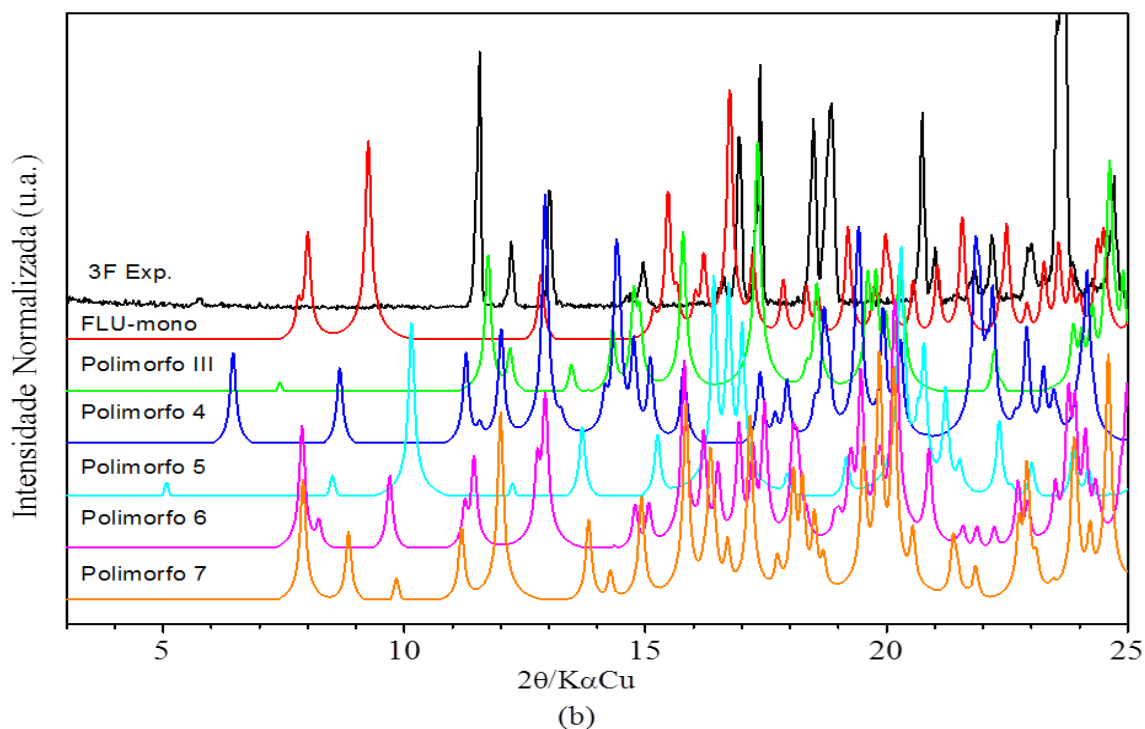
Fonte: Do autor.

As Figuras 54 a e b mostram os padrões de DRXP experimentais para as amostras 2F (recristalização em HCl) e 3F (recristalização em HNO<sub>3</sub>), os quais não apresentam coincidência aparente com os padrões de DRXP calculados para os polimorfos conhecidos do FLU e o FLU-H<sub>2</sub>O. Os resultados levam a crer que os sais cloreto e nitrato foram obtidos. Em trabalhos futuros pretende-se fazer a caracterização sistemática desses sais bem como comparar suas solubilidades com os polimorfos e hidratos do FLU. Serão feitas tentativas de se obter monocristais para determinar suas estruturas.

As recristalizações conduzidas em acetonitrila + Ác. Maléico 1:1 (sólido 4F) e acetonitrila + metanol 1:1 (sólido 5F) (seção 3.4.1, Quadro 4) apresentaram padrões de DRXP condizentes com um material policristalino contendo o polimorfo 4 do FLU (Figura 55). É importante destacar que no artigo em que a estrutura do polimorfo 4 foi publicada (KARANAM, et al., 2012), não foi apresentado nenhum dado mostrando que o material policristalino puro tenha sido obtido. Portanto, nosso trabalho mostra pela primeira vez que é possível obter o polimorfo 4 puro e em larga escala.

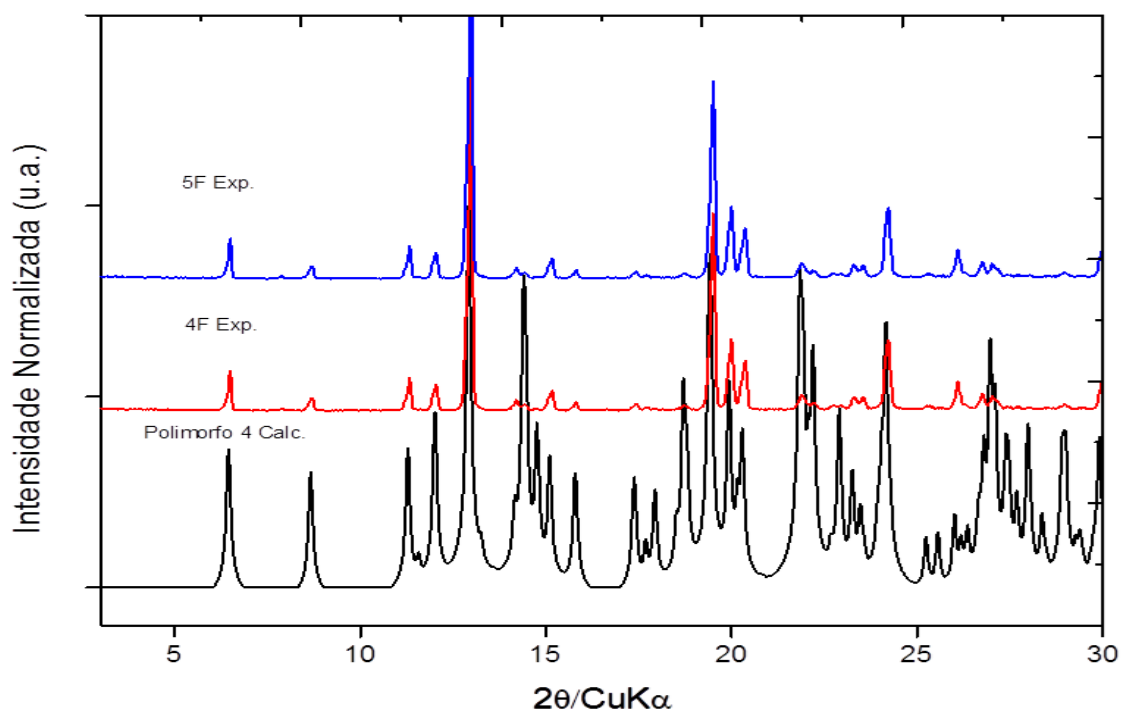
Figura 54 - Difratogramas experimental da amostra 2F (a) e da amostra 3F (b) comparado aos padrões de DRXP calculados para o FLU-H<sub>2</sub>O IVUQIZ01 (CAIRA et al., 2004) e para os polimorfos III (IVUQOF) (CAIRA et al., 2004), 4 (IVUQOF01), 5 (IVUQOF02), 6 (IVUQOF03) e 7 (IVUQOF04) do FLU (KARANAM et al. 2012).





Fonte: Do autor.

Figura 55 - Difratograma do polimorfo 4 do FLU calculado (IVUQOF01) comparado aos padrões de DRXP das recristalizações 4F e 5F.



Fonte: Do autor.

A obtenção do polimorfo 4 do FLU como material monofásico por meio das condições de recristalização 4F e 5F (seção 3.4.1, Quadro 4) sugerem que ter a acetonitrila como

solvente talvez possa ser uma variável importante para a obtenção desse polimorfo. Contudo, a recristalização na condição 6F que usou outra proporção de acetonitrila + metanol (5 mL:5 mL) ao invés de gerar o polimorfo 4 puro, proporcionou a cristalização de uma mistura dos polimorfos 6 e 7, a exemplo do que ocorreu com a condição 1F (Figura 51), mostrando que a formação de um polimorfo em detrimento a outros, não depende apenas de uma variável.

Os polimorfos 4 e 7 obtidos de forma monofásica serão utilizados em estudos futuros de caracterização, estabilidade e solubilidade.

## 6 CONCLUSÕES

De forma geral, os estudos cristalográficos, físico-químicos e farmacêuticos conduzidos nessa tese foram capazes de gerar conhecimentos no âmbito das diferentes formas sólidas dos IFA, DXZ e FLU. Os conhecimentos gerados foram importantes para se ter novos processos de obtenção das formas sólidas dos IFA, melhor entendimento dos processos de transição de fases polimórficas ou de hidratação/desidratação, através das diferentes técnicas de caracterização do estado sólido e, por fim, poder estabelecer um melhor entendimento da relação entre as diferentes estruturas cristalinas dos dois IFA com as suas respectivas propriedades físicas, químicas e farmacêuticas.

Ademais, os resultados apresentados nessa tese geraram produção científica de qualidade (artigo publicado para a DXZ na revista *Crystal Growth & Design*) e ainda pode gerar um novo artigo científico referente aos resultados obtidos para o FLU.

Na sequência serão apresentadas as conclusões específicas de cada um dos IFA estudados nessa tese.

### 6.1 Parte I - DXZ

A estrutura cristalina da base livre da DXZ-BL foi determinada neste trabalho pela primeira vez. A conformação da molécula neutra (geometria intramolecular) mostrou-se significativamente diferente em comparação à DXZ catiônica presente na forma DXZM-A, mas comparável à da forma DXZM-dG.

As análises de DSC e TG/DTA mostraram a seguinte sequência de temperatura de fusão DXZ-BL < DXZM-H < DXZM-A o que corresponde a ordem de estabilidade das formas estudadas. Os resultados também sugerem que o par de polimorfos H e A da DXZM são monotrópicos.

A solubilidade das formas estudadas mostrou-se fortemente dependente do pH do meio de dissolução. As três formas são praticamente insolúveis na faixa de pH neutro testado. A DXZ-BL mostrou solubilidade quantificável apenas no meio HCl 0,01 mol.L<sup>-1</sup>, mas com valores menores que os mostrados pelas formas DXZM-A e DXZM-H nesse meio. Os dois polimorfos proporcionaram a hidrólise ácida (pH final ~ 4) no meio água pura, o que proporcionou solubilidades comparáveis às observadas no meio HCl 0,01 mol.L<sup>-1</sup>. O

polimorfo metaestável (DXZM-H) mostrou-se, em média, 2 vezes mais solúvel que o polimorfo estável (DXZM-A) nos meio água e HCl 0,01 mol.L<sup>-1</sup>.

Tendo em vista os resultados obtidos e os já acumulados na literatura, sugerimos que o DXZM-A seja preconizado como a forma a ser utilizada para doses orais e recomendamos que sua presença seja monitorada em IFA e em comprimidos comerciais por métodos e técnicas de identificação/quantificação no estado sólido e/ou testes de dissolução *in vitro*.

## 6.2 Parte II - FLU

Foi demonstrado que as matérias-primas (IFA) e algumas formulações do FLU estudadas nesse trabalho são/contém misturas físicas binárias de um dos polimorfos conhecidos do FLU (FLU-5) e do FLU-H<sub>2</sub>O. Por outro lado, o medicamento referência do FLU mostrou ter em sua constituição unicamente o FLU-H<sub>2</sub>O.

Os estudos de estabilidade realizados em zona IV-b mostraram que os IFA ou formulações contendo a mistura de FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O tendem a ter o FLU-5 convertido ao FLU-H<sub>2</sub>O.

A partir de uma das matérias-primas, foi possível obter, por meio de mecanoquímica (moagem mecânica de IFA + gotas de água), um material monofásico (puro em termos cristalinos) da forma monohidratada do FLU, o FLU-H<sub>2</sub>O.

Por meio de recristalizações fazendo-se uso de solventes, foi possível reproduzir material policristalino puro dos polimorfos 4 e 7 do FLU, os quais serão utilizados em trabalhos futuros.

Por meio de recristalizações fazendo-se uso de solventes, foi possível reproduzir material policristalino indicativo dos sais cloreto e nitrato do FLU, os quais serão utilizados em trabalhos futuros.

O FLU-5 puro foi produzido por meio da desidratação do FLU-H<sub>2</sub>O via aquecimento acima de 100 °C.

A forma amorfa do FLU foi obtida a partir da solidificação (material fresco) do FLU líquido (FLU fundido).

Um polimorfo metaestável do FLU contendo uma estrutura isomórfica ao FLU-H<sub>2</sub>O (exceto pela presença de água) foi obtido a partir do envelhecimento da forma amorfa (material fresco) do FLU. Esse polimorfo foi denominado como FLU-10.

O FLU-5 puro do FLU foi produzido a partir da forma amorfa e/ou polimorfo isomórfico do FLU-H<sub>2</sub>O via aquecimento acima de 100 °C.

As transições de fase envolvendo a sequência de transições de fase do FLU partindo-se do FLU-H<sub>2</sub>O (FLU-H<sub>2</sub>O  $\overrightarrow{aquec.}$  FLU-5  $\overrightarrow{aquec.}$  FLU-líquido  $\overrightarrow{resfr.}$  FLU-amorfo  $\overrightarrow{aquec.}$  FLU-5...) foram acompanhadas em um estudo de DSC cíclico estabelecendo-se a temperatura de cada transição.

A solubilidade em equilíbrio da matéria-prima do FLU (mistura de FLU-5 + FLU-H<sub>2</sub>O), FLU-5 pura, FLU-H<sub>2</sub>O pura e FLU-amorfa foram comparadas, mostrando não haver diferença significativa de solubilidade entre as diferentes formas em um mesmo meio. Tal resultado se deve a transformação de todas as fases sólidas em equilíbrio com a solução no FLU-H<sub>2</sub>O durante o estabelecimento do equilíbrio termodinâmico, que é alcançado já nas primeiras 12h do experimento. Observa-se que a solubilidade determinada em água é comparável aos valores anteriormente estabelecidos na literatura e também aos estabelecidos nos meios tamponados pH 4,5, 5,8 e 7,2 estudados nesse trabalho (que também não tiveram variações significativas entre si). A invariância de solubilidade entre esses meios se explica pelo fato de todos levarem a um pH final dentro da faixa de pH (pH entre 3 a 11) em que a espécie majoritária em solução será a FLU não-ionizada. Por outro lado, solubilidade alcançada em HCl mol.L<sup>-1</sup> (pH<sub>f</sub> entre 2,2 a 2,9) foi de ~4 vezes maior que nos demais meios devido a formação das espécies mais solúveis de FLU<sup>+</sup> e FLU<sup>2+</sup> nas soluções de equilíbrio.

Como não há diferença de solubilidade entre o FLU-5 e o FLU-H<sub>2</sub>O, havendo inclusive a conversão do FLU-5 para o FLU-H<sub>2</sub>O na presença de água (solução ou umidade) ambos podem ser usados para preparar ou estar presentes em formulações do FLU considerando a biodisponibilidade esperada no fármaco. Assim, a escolha da forma a ser usada pode levar em consideração apenas critérios farmacotécnicos.

## REFERÊNCIAS

- AAKEROY, C. B.; FASULO, M. E.; DESPER, J. Cocrystal or salt: does it really matter? *Mol. Pharm.*, v. 4, p. 317–322, 2007.
- AALTONEN, J. et al. Solid form screening – a review. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 71, n. 1, p. 23-37, 2009.
- ABRANCHES, P. A. S. et al. Complexes of fluconazole with sodium-pulfonatocalix[n]arenes: characterization, solubility and antifungal activity. *RSC Adv.*, v. 5, p. 44317–44325, 2015.
- AGUILAR, C. A. et al. EP Pat, 1162202B1, 2000.
- AGUILAR, C. A. et al. US Pat, 6525195B1, 2000.
- AITIPAMULA, S. et al. Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What’s in a Name? *Cryst. Growth Des.*, v. 12, n. 5, p. 2147-52, 2012.
- AITIPAMULA, S.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Polymorphism in cocrystals: a review and assessment of its significance. *CrystEngComm.*, v. 16, p. 3451-3465, 2014.
- AKDUMANA, B.; CRAWFORD, D. E. Terazosin, doxazosin, and prazosin: current clinical experience. *Urology.*, v. 58, Issue 6, Supplement 1, p. 49–54, 2001.
- ALKHAMIS, K. A. et al. Solid-State Characterization of Fluconazole. *Pharmaceutical Development and Technology*, v. 7, n. 4, p. 491–503, 2002.
- AMIDON, G.L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.*, v. 12, n. 3, p. 413–20, 1995.
- AMIDON, G.L.; HIGUCHI W.I.; HO, N. F. Theoretical and experimental studies of transport of micelle-solubilized solutes. *J. Pharm. Sci.*, v. 71; p. 77-84, 1982.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de medicamentos. Disponível em : <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/q/?nomeProduto=fluconazol>> Acesso: Nov/2018b.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de medicamentos. Disponível em : <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/in\\_10\\_2016\\_.pdf/5c6384cd-4743-4a96-a4c7-5ef5626c0a80](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/in_10_2016_.pdf/5c6384cd-4743-4a96-a4c7-5ef5626c0a80)> Acesso: Nov/2018c.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de medicamentos. Disponível em : <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc73.pdf>> Acesso: Nov/2018a.

- ARAÚJO et al. Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. *Int. J. Pharm.*, v. 260, n. 2, p. 303–314, 2003.
- ARAÚJO, G. L. B. et al. Polimorfismo na produção de medicamentos. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 33, n. 1, p. 27-36, 2012.
- ARORA, K. K.; THAKRAL, S.; SURYANARAYANAN, R. Instability in Theophylline and Carbamazepine Hydrate Tablets: Cocrystal formation due to release of lattice water. *Pharmaceutical Research*, v. 30, p. 1779 – 1789, 2013.
- BATZDORF, L. et al. Direct In Situ Investigation of Milling Reactions Using Combined X-ray Diffraction and Raman Spectroscopy. *Angew. Chem. Int.*, v. 54, p. 1799 –1802, 2015.
- BAUER, J. et al. Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharmaceut Res*, v. 18, n. 6, p. 859-66, 2001.
- BELAL, T. S. et al. Validated HPTLC method for the simultaneous determination of alfuzosin, terazosin, prazosin, doxazosin and finasteride in pharmaceutical formulations. *Analytical Chemistry Research.*, v. 1, p. 23–31, 2014.
- BERGSTROM, C. A. S. et al. A. Is the full potential of the biopharmaceutics classification system reached? *Eur J Pharm Sci.*, v. 57 p. 224–31, 2014.
- BERNSTEIN, Joel et al. Patterns in hydrogen bonding: functionality and graph set analysis in crystals. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 34, n. 15, p. 1555-1573, 1995.
- BHESANIYA, K.; NANDHA, K.; BALUJA, S. Thermodynamics of Fluconazole Solubility in Various Solvents at Different Temperatures. *J. Chem. Eng. Data*, v. 59, p. 649–652, 2014.
- BILTON, C. et al. When is a polymorph not a polymorph? Helical trimeric O-H...O synthons in trans-1,4-diethynylcyclohexane-1,4-diol. *Chem. Commun.*, v.17, p.1675-6, 1999.
- BIRKENHEIDE, P. K. et al. US Pat, 6500830B1, 1998.
- BOYLE, P. D. Growing Crystals That Will Make Your Crystallographer Happy. Department of Chemistry North Carolina State University, 2006.
- BRAGA, D. et al. In Molecular Networks, ed. M. W. Hosseini. Springer Berlin Heidelberg, BRAGA, D.; GREPIONI, F.; MAINI, L. The growing world of crystal forms. *Chem. Commun.*, v. 46, p. 6232–6242, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Nota técnica nº 003/2013, 2013. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/resultadodebusca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2](http://portal.anvisa.gov.br/resultadodebusca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2)

Fasset\_publisher%2Fview\_content&\_101\_assetEntryId=2512926&\_101\_type=documentBrasil.> Acesso: Nov/2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 31 de agosto de 2010, 2010. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0031\\_11\\_08\\_2010.pdf/5e157d15-d3d5-4bb9-98db-5667e4d9e0c8](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0031_11_08_2010.pdf/5e157d15-d3d5-4bb9-98db-5667e4d9e0c8)> Acesso: Nov/2018.

BRAUN, D. E., et al. Navigating the waters of unconventional crystalline hydrates. *Mol. Pharmaceutics*, v. 12, p. 3069-3088, 2015.

BRAUN, D. E.; GRIESSER, U. J. Stoichiometric and nonstoichiometric hydrates of brucine. *Cryst. Growth Des*, v. 16, p. 6111-6121, 2016.

BRITISH Pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationery Office, 2019.

BRITTAİN, H. G. Polymorphism in pharmaceutical solids, Marcel Dekker: New York, 1999.

BRITTAİN, H. G. Spectroscopy of Pharmaceutical Solids edited by Taylor & Francis Group, 2006.

BRITTAİN & GRANT. Polymorphism in pharmaceutical solids. 2<sup>o</sup>.ed. New York: *Informa Healthcare*, 2009.

BROG, J. P. et al. Polymorphism, what it is and how to identify it: a systematic review. *RSC Adv.*, v. 3, p. 16905–16931, 2013.

BYRN, S. et al. Pharmaceutical Solids: A Strategic Approach to Regulatory Considerations. *Pharm. Res.*, v. 12, n. 7, p. 945–954, 1995.

CAIRA, M. R. Crystalline polymorphism of organic compounds. *Top. Curr. Chem.*, v. 198 p. 163–208, 1998.

CAIRA, M. R. et al. Preparation and Crystal Characterization of a Polymorph, a Monohydrate, and an Ethyl Acetate Solvate of the Antifungal Fluconazole *Pharm. Sci.*, v. 93, p. 601–611, 2004.

CALVO, N. L.; KAUFMAN, T. S.; MAGGIO, R. M. Mebendazole crystal forms in tablet formulations. An ATR-FTIR / chemometrics approach to polymorph assignment *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 122, p. 157–165, 2016.

CAMPETA, A. M. et al. Development of a Targeted Polymorph Screening Approach for a Complex Polymorphic and Highly Solvating API. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 99, n. 9, 2010.

CANNATA, V. P. M. et al. EP Pat, 0848001A1, 1997.

CARDURA (doxazosin mesylate) Product Monograph, Disponível em:

<[https://www.pfizer.ca/sites/g/files/g10037206/f/201710/CARDURA\\_PM\\_Eng\\_201486\\_4Apr2017.pdf](https://www.pfizer.ca/sites/g/files/g10037206/f/201710/CARDURA_PM_Eng_201486_4Apr2017.pdf)> Acesso em: Nov/2018.

CARTENSEN, J. T. One-Component Systems. *Advanced Pharmaceutical Solids*. EUA: Marcel Dekker, Inc., Cap. 1, p. 1–11, 2001.

CARVALHO, P. S. Jr., et al. Reversible Solid-State Hydration/Dehydration of Paroxetine HBr Hemihydrate: Structural and Thermochemical Studies. *Cryst. Growth Des.*, 16, 1543–1549, 2016.

CENSI, R.; DI MARTINO, P. Polymorph impact on the bioavailability and stability of poorly soluble drugs. *Molecules*, v. 20, p. 18759-18776, 2015.

CHA, K.-H. et al. pH-independent sustained release matrix tablet containing doxazosin mesylate: effect of citric acid. *Archives of pharmacal research*, v. 33, n. 12, p. 2003-2009, 2010.

CHAROO, N. A. et al. Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Fluconazole. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 103 p. 3843–3858, 2014.

CHAROO, N. A.; CRISTOFOLETTI, R.; DRESSMAN, J. B. Risk assessment for extending the Biopharmaceutics Classification System-based biowaiver of immediate release dosage forms of fluconazole in adults to the paediatric population. *Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 67, p. 1156–1169, 2015.

CHAUDHARY, A. et al. Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, v. 2, n. 1, p. 32-67, 2012.

CHEMBURKAR, S.R. et al. Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development. *Org. Proc. Res. Dev.*, v.4, n.5, p.413-17. 2000.

CHERNYSHEV, V. V. et al. Protonation site and hydrogen bonding in anhydrous and hydrated crystalline forms of doxazosin mesylate from powder data. *Acta Crystallogr.*, v. 59, p. 787-793, 2003.

CHIENG, N. et al. Physical characterization and stability of amorphous indomethacin and ranitidine hydrochloride binary systems prepared by mechanical activation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 71, n. 1, p. 47-54, 2009.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis pharmaceutical polymorphs. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 55, p. 618-644, 2011.

- CHUNG, M. et al. Clinical pharmacokinetics of doxazosin in a controlled-release gastrointestinal therapeutic system (GITS) formulation. *British journal of clinical pharmacology*, v. 48, n. 5, p. 678, 1999.
- CLAS, S. D.; DALTON, C. R.; HANCOCK, B. C. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 2, 311, 1999.
- CORREA, J. C. R.; VIANNA-SOARES, C. D.; SALGADO, H. R. N. Development and Validation of Dissolution Test for Fluconazole Capsules by HPLC and Derivative UV Spectrophotometry. *Chromatography Research International*, p. 1-8, 2012.
- COSTA, J. M., et al. Polymorphic forms of mebendazole: analytical aspects and toxicity, *Circ. Farm.*, p. 415–426, 1991.
- CRUZ-CABEZA, A. J.; REUTZEL-EDENSB, S. M.; BERNSTEIN, J. Facts and fictions about polymorphism. *Chem. Soc. Rev.*, v. 44, p. 8619—8635, 2015.
- CRYVALIS Pro 1.7.; Oxford Diffraction Ltd.: Abingdon, UK, 2006.
- CRYVALIS, P. R. O. Xcalibur CCD System CrysAlis Software System Version; Oxford Diffraction, 1, 2003.
- CULLITY, B. D. Elements of X-Ray Diffraction, 2a. ed., Addison-Wesley: Massachusetts, 1978.
- CUNHA, S. Métodos simples de formação de monocristal de substância orgânica para estudo estrutural por difração de raios X. *Quim. Nova*, v. 31, n. 4, p. 906-909, 2008.
- DA SILVA, C. C. et al. Salt or cocrystal of salt? Probing the nature of multicomponent crystal forms with infrared spectroscopy. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, v. 167, p. 89–95, 2016.
- DASH, A. K. & ELMQUIST, W. F. Fluconazole. In Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. *Brittain, H. G.*, v. 27, p. 67-113, 2001.
- DATTA, S.; GRANT, D. J. W. Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, n.1, p. 42-57, **2004**.
- DEAN, J. A. The Analytical Chemistry Handbook. New York: McGraw Hill, Inc. pp. 15.1–15.5. 1995.
- DE BETOÑO, S. F.; GARCIA, A. A.; VALENTÍN, J. F. A. UV-Spectrophotometry and square wave voltammetry at nafion-modified carbon-paste electrode for the determination of doxazosin in urine and formulations. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 20, n. 4, p. 621-630, **1999**.

DE MELO, C. C. et al. Mechanochemistry applied to reformulation and scale-up production of Ethionamide: salt selection and solubility enhancement. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 81, p. 149-156, 2016.

DEBRUYNE, D.; RYCKELYNCK, J. P. Clinical pharmacokinetics of fluconazole. *Clin. Pharmacokinet.*, v. 24, p. 10, 1993.

DESAI, S. R.; DHARWADKAR, S. R. Study of process induced polymorphic transformations in fluconazole drug. microscopy (SEM), v. 7, p. 9, 2009.

DESAI, S. R.; SHAIKH, M. M.; DHARWADKAR, S. R. Thermoanalytical study of polymorphic transformation in Fluconazole drug. *Thermochimica Acta*, 399: 81-89, 2003.

DESIRAJU, G. R. J.; NANGIA, A. Use of the Term “Crystal Engineering” in the Regulatory and Patent Literature of Pharmaceutical Solid Forms. Some Comments . *Cryst. Growth Des.*, v. 16, p. 5585–5587, 2016.

DESIRAJU, G. R. J.; VITTAL, J.; RAMANAN, A. Crystal engineering: A textbook, *World Scientific*, New Jersey, 2011.

DESIRAJU, G.R. Polymorphism: the same and not quite the same. *Cryst. Growth Des.*, v. 8, n. 1, p. 3-5, 2008.

DETOISIEN, C. et al. Thermal analysis: A further step in characterizing solid forms obtained by screening crystallization of an API. *International Journal of Pharmaceutics*, 403, 29, 2011.

DOUROUMIS, D.; ROSS, S. A.; NOKHODCHI, A. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 117, p. 178–195, 2017.

DRUGBANK. Banco de dados de medicamentos. Disponível em:

<<http://www.drugbank.ca/drugs/DB01162>>; <<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00590>>; <<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00457>> ; < <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00196>>.

Acesso: Nov/2018.

DRUGIFORSY, Disponível em:

<http://www.druginfosys.com/drug.aspx?drugcode=264&type=1>> Acesso: Nov/2018.

ELDER, D. P.; HOLM, R.; de DIEGO, H. L. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453 p. 88–100 2013.

ELDER, D. P.; HOLMB, R.; de DIEGO, H. L. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, p. 88–100, 2013.

- ERCEG, M. et al. In vitro vs. canine data for assessing early exposure of doxazosin base and its mesylate salt. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 80, n. 2, p. 402-409, 2012.
- EUROPEAN Pharmacopoeia, 9<sup>th</sup> edition, EDQM, 2019.
- EVANS, D. G.; BOEYENS, J. C. A. Conformational analysis of ring pucker. *Acta Crystallographica Section B*, v. 45, n. 6, p. 581-590, 1989.
- FARIAS, M. A. dos S.; SOARES, F. L. F.; CARNEIRO, R. L. Crystalline phase transition of ezetimibe in final product, after packing, promoted by the humidity of excipients: monitoring and quantification by Raman spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 121, p. 209-214, 2016.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010.
- FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). *J. Appl. Crystallogr.*, v. 30, p. 565, 1997.
- FARRUGIA, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. *J. Appl. Crystallogr.*, v. 32, p. 837, 1999.
- FDA, Food and Drug Administration, Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals Guidance for Industry, Disponível em:  
<<https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm281764.pdf>> Acesso: Nov/2018a.
- FDA, Food and Drug Administration, FDA Approved Drug Products, Disponível em: <  
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=BasicSearch.process>>  
Acesso: Nov/2018b.
- FDA, Food and Drug Administration. Guidance for Industry, ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Washington, DC, 2007.
- FERNÁNDEZ-BERTRAN, J. F. Mechanochemistry: an overview. *Pure and Applied Chemistry* v. 71, 4, p. 581–586, 2009.
- FISCHER, F. et al. Supply and demand in the ball mill: competitive cocrystal reactions. *Crystal Growth & Design*, v. 16, n. 10, p. 5843-5851, 2016.
- FISCHER, F. et al. Survival of the Fittest: Competitive Co-crystal Reactions in the Ball Mill. *Chem. Eur. J.*, v. 21, p. 14969 – 14974, 2015a.
- FISCHER, F. et al. Synthesis, structure determination, and formation of a theobromine : oxalic acid 2 : 1 cocrystal. *CrystEngComm*, v. 17, p. 824–829, 2015b.

- FROEHLICH, P.E & GASPAROTTO, F.S. Mebendazol: identificação das formas polimórficas em diferentes matérias-primas e medicamentos (referência e genéricos) disponíveis no mercado nacional. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* v. 26, n.3, p. 205-210, 2005.
- GAVEZZOTTI, Angelo. A solid-state chemist's view of the crystal polymorphism of organic compounds. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 96, n. 9, p. 2232-2241, 2007.
- GEČIAUSKAITĖ, A. A.; GARCÍA, F. Main group mechanochemistry. *Beilstein J. Org. Chem.* v. 13, p. 2068–2077, 2017.
- GIRIDHAR, T. et al. US Pat, 20020065287A1, 2001.
- GIRIDHAR, T. et al. US Pat, 6399775B1, 2000.
- GIRON, et al. Solid state characterizations of pharmaceutical hydrates. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 68, p. 453 – 465, 2002.
- GOLOB, S. et al. Improving biopharmaceutical properties of Vinpocetine through emphasis on cocrystals. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 117, p. 25–46, 2017.
- GONZAGA, E. V. et al. Solid-state phase transition mechanism and physical–chemical study of the crystal forms of monosodium alendronate: trihydrate versus anhydrate. *Crystal Growth & Design*, v. 16, n. 12, p. 6891-6902, 2016.
- GOODMAN & GILMAN: As bases farmacológicas da terapêutica/[revisão de conteúdo Almir Lourenço da Fonseca].-Rio de Janeiro: *MacGraw-Hill Interamericana do Brasil*, 11<sup>a</sup> ed., 2006.
- GORKOVENKO, E. A. et al. The Pressure-Induced Polymorphic Transformations in Fluconazole. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 104, n. 12, p. 4164-4169, 2015.
- GRAFE, I. AND MORSDORF, J. P., EP Pat, 0849264A1, 1996.
- GRAFE, I. AND MORSDORF, J. P., EP Pat, 0849265A1, 1996.
- GRAFE, I. AND MORSDORF, J. P., EP Pat, 0849266A1, 1996.
- GRCMAN, M. et al. Some physic-chemical properties of doxazosin mesylate polymorphic forms and its amorphous state. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v.68, p.373–387, 2002.
- GROTHER, E. et al. Solvates, salts, and cocrystals: a proposal for a feasible classification system. *Crystal Growth & Design*, v. 16, n. 6, p. 3237-3243, 2016.
- GU, X. J. & JIANG, W. J. Characterization of Polymorphic Forms of Fluconazole Using Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Pharm. Sci.*, v. 84, p. 1438–1441, 1995.
- HALEBLIAN, J.; MCCRONE, W. Pharmaceutical applications of polymorphism. *J. Pharm. Sci.*, 58 (8), 911-929, 1969.

- HAO WU, N. G. et al. Mixed micelle cloud point-magnetic dispersive  $\mu$ -solid phase extraction of doxazosin and alfuzosin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, v. 134, p. 10–16, 2015.
- HASEGAWA, K. Introduction to single crystal X-ray analysis. *The Rigaku Journal*, v.28, n. 1, p. 14-18, 2012.
- HEALY, A. M. et al. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special cocrystallization, *J. Pharm. Sci.*, v. 105, p. 3626–3633, 2016.
- HERBIG, S. M. et al. Asymmetric-membrane tablet coatings for osmotic drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 35, n. 2-3, p. 127-136, 1995.
- HILFIKER, R.; BLATTER, F.; RAUMER, M. Relevance of Solid-state Properties for Pharmaceutical Products. In: HILFIKER, R. Polymorphism in the Pharmaceutical Industry. Alemanha: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA., cap 1, p. 1-19, 2006.
- HORIE, K. et al. Definitions of terms relating to reactions of polymers and to functional polymeric materials. *Pure Appl. Chem.* v. 76, p. 889–906, 2004.
- HULSE, W. L.; GRAY, J.; FORBES, R.T. A discriminatory intrinsic dissolution study using UV area imaging analysis to gain additional insights into the dissolution behaviour of active pharmaceutical ingredients; *I. J. of Pharmaceutics*, v. 434; p. n. 1-2, p. 133-139, 2012.
- HUNTER, A. D. Growing Single Crystals Suitable for Diffraction Analysis. Department of Chemistry Youngstown State University, 2000.
- IBRAHIM, H. G.; PISANO, F.; BRUNO, A. Polymorphism of phenylbutazone: Properties and compressional behavior of crystals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 66, n. 5, p. 669-673, 1977.
- ICH Q6A,  
[https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf). Acesso em: 06/2019.
- IOWAL. PDL.Marketshare Report. Disponível em:  
<<http://www.iowamedicaidpdl.com/sites/default/files/ghs-files/reportslegislative-reports-legislative-reports/2013-08-06/iowapdlmarketshareannualreport07222013.pdf>>. Acesso Nov/2018.
- KAHANKARI, R. K.; GRANT, D. J.W. Pharmaceutical hydrates. *Thermochimica Acta*, v. 248, p. 61 - 79, 1995.
- KAMBLE, R. N. et al. Synthesis, solid state characterization and antifungal activity 2018
- KANKAN, R. N. et al. US Pat, 8383627B2, 2008.

- KARANAM, M. et al. New Polymorphs of Fluconazole: Results from Cocrystallization Experiments. *Cryst. Growth Des.*, v. 12, p. 240–252, 2012.
- KARPINSKI, P. H. Polymorphism of active pharmaceutical ingredients. *Chem. Eng. Technol.*, v. 29, n. 2, p. 233-7, 2006.
- KASTELIC, J. et al. A 1:1 cocrystal of fluconazole with salicylic acid. *Acta Crystallographica Section C*, v. C67, p. 370-372, 2011.
- KASTELIC, J. et al. Fluconazole Cocrystals with Dicarboxylic Acids. *Crystal Growth & Design*, v. 10, n. 11, 2010.
- KASTELIC, J. et al. Fluconazole–malonic acid (1/1). *Acta Crystallographica Section E*, v. E69, p. 378-379, 2013.
- KISS, A., et al. Solid state investigation of mefloquine hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 12, 889, 1994.
- KAWAKAMI, K. Pharmaceutical salts: A summary on doses of salt formers from the ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 64 p. 480–495, 2012.
- KLEIN, P.; THYES, M.; HIX, D. U.S. Pat., 6,500,830B1, 1998.
- KREIDL, J. et al. A.WO Patent, WO02/076955 A1, 2002.
- LÁNG, P. et al. Polymorph screening of an active material. *J Pharm Biomed Anal.*, v. 84., p. 177-183, 2013.
- LEE, A.Y.; ERDEMIR, D.; MYERSON, A.S. Crystal polymorphism in chemical process development. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.*, v. 2, p. 259-80, 2011.
- LESTER, C. et al. Dehydration of risedronate hemi-pentahydrate: Analytical and physical characterization. *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 95, n. 12, 2006.
- LI, Y.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Quantification of polymorphic impurity in an enantiotropic polymorph system using differential scanning calorimetry, X-ray powder diffraction and Raman Spectroscopy. *Int. J. Pharm.*, v. 415, p. 110-118, 2011.
- LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 58, p. 265–278, 2004.
- LIN, S-Y., et al. An Overview of Famotidine Polymorphs: Solid-State Characteristics, Thermodynamics, Polymorphic Transformation and Quality Control. *Pharm Res*, v.31, p.1619–1631, 2014.

- LIU, L.; ZHU, S. A study on the supramolecular structure of inclusion complex of  $\beta$ -cyclodextrin with prazosin hydrochloride. *Carbohydrate Polymers.*, v. 68, Issue 3, , p. 472–476, 2007.
- LIYING, X. et al. *Chines. J. Med.*, 5, 266-270, 1995.
- LLINÀS, A.; GOODMAN, J.M. Polymorph control: past, present and future. *Drug Discov. Today*, v.13, n.5-6, p.198-210, 2008.
- LO, J. B. et al. Patent Application, GB 2270521 A, 1994.
- LUEDEKER, D. & BRUNKLAUS, G. NMR crystallography of ezetimibe co-crystals. *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, v. 65, p. 29–40, 2015.
- LUEDEKER, D. et al. Crystal engineering of pharmaceutical co-crystals: “NMR crystallography” of niclosamide co-crystals. *Cryst. Growth Des.*, v. 16, p. 3087–3100 2016.
- MACRAE, C. F. et al. Mercury CSD 2.0—New features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.*, 41, 466-470, 2008.
- MAGUIRE, C. K.; BRUNSKILL, A. P. J. Assessment of the Stoichiometry of Multicomponent Crystals Using Only X-Ray Powder Diffraction Data. *Mol. Pharmaceutics*, v. 12, p. 2061-7, 2015.
- MAHMOOD, A. et al. Synthesis and structure of 1-benzyl-5-amino-1H-tetrazole in the solid state and in solution: Combining X-ray diffraction, <sup>1</sup>H NMR, FT–IR, and UV–Vis spectra and DFT calculations. *Comptes Rendus Chimie.*, v. 18, Issue 4, p. 422–429, 2015.
- MARBERGER, M. Managing benign prostatic hyperplasia and prostate cancer – the challenges today. *Journal of Men’s Health*, v. 7 (2), p. 113-124, 2010.
- MATSUI, K. et al. In Vitro Dissolution of Fluconazole and Dipyridamole in Gastrointestinal Simulator (GIS), Predicting in Vivo Dissolution and Drug–Drug Interaction Caused by Acid-Reducing Agents. *Mol. Pharmaceutics*, v. 12, p. 2418–2428, 2015.
- MYERSON, A. S. *Crystallization Technology Handbook*. Marcel Dekker: New York, 1985.
- MOHAMED, S.; TOCHER, D. A.; PRICE, S. L. Computational prediction of salt and cocrystal structures - does a proton position matter? *Int. J. Pharm.*, v. 418, p. 187–198 2011.
- MORISSETTE, S. L. et al. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 275– 300, 2004.
- MORSDORF, J. P. and Grafe, I., US Pat, 6130218A, 1997.
- MORSDORF, J. P. and Grafe, I., US Pat, 6133269A, 1997.
- MORSDORF, J. P. and Grafe, I., US Pat, 6140334A, 1997.

- MOURA, E. A. et al. Thermal characterization of the solid state and raw material fluconazole by thermal analysis and pyrolysis coupled to GC/MS. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 100, p. 289–293, 2010.
- NIRMALA, M. J. et al. Enhancing the solubility of fluconazole using a new essential oil based microemulsion system. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 5(3), 2013.
- NUNN, T.; WILLIAMS, J. Formulation of medicines for children. *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, v. 59, n. 6, p. 674–6, 2005.
- OBAIDAT, R. M.; ALKHAMIS, K. A.; SALEM, M. S. Determination of factors affecting kinetics of solid-state transformation of fluconazole polymorph II to polymorph I using diffuse reflectance Fourier transform spectroscopy. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 36(5), p. 570–580, 2010.
- OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Química Nova*, 34, 1224, 2011.
- OPARIN, R. D. et al. The interplay between the paracetamol polymorphism and its molecular structures dissolved in supercritical CO<sub>2</sub> in contact with the solid phase: In situ vibration spectroscopy and molecular dynamics simulation analysis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences.*, v. 77, p. 48–59, 2015.
- ORBEN, C. M.; DITTRICH, B. Hydrogen ADPs with Cu Ka data? Invariom and Hirshfeld atom modeling of fluconazole. *Acta Crystallographica Section C*, v. C70, 2014.
- OWOYEMI, et al. Fluconazole: Synthesis and Structural Characterization of Four New Pharmaceutical Cocrystal Forms. *Crystal Growth & Design*, v.19, p. 648-657, 2019.
- PAJANDER, J. et al. Foreign matter identification from solid dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 80, p. 116–125, 2013.
- PARK, H. J. et al. Recrystallization of fluconazole using the supercritical antisolvent (SAS) process. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 328, p. 152–160, 2007.
- PARK, H. J. et al. Solid-State Carbon NMR Characterization and Investigation of Intrinsic Dissolution Behavior of Fluconazole Polymorphs, Anhydrate Forms I and II. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 58(9), p. 1243—1247, 2010.
- PAVLI, M.; VREČER, F.; BAUMGARTNER, S. Matrix tablets based on carrageenans with dual controlled release of doxazosin mesylate. *International journal of pharmaceutics*, v. 400, n. 1-2, p. 15-23, 2010.

- PETRIC, M. F. et al. Structural and ab initio studies on the polymorphism of iminophosphorane (CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)<sub>3</sub>P=NP[(=O)(OPh)<sub>2</sub>]. *Journal of Molecular Structure*, v. 1083, p. 389–397, 2015.
- PFANNKUCH, F.; RETTIG, H.; STAHL, P. H.; Biological effects of the API salt form. In: STAHL, P. H., WERMUTH, C.G. (Eds.), *Handbook of Pharmaceutical Salts*. VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich and Wiley-VCH, Weinheim, p. 125–146, 2011.
- PFIZER Product Monographproducts. *Inc. Pfizer Canada Inc.*, Licensee Pfizer Canada Inc. 2010.
- PINDELSKA, E.; SOKAL, A.; KOLODZIEJSKI, W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 117, p. 111–146, 2017.
- PITALUGA, A. et al. Further study of (±)-mefloquinium chloride solvates. Crystal structures of the hemihydrate and monohydrate of (±)-mefloquinium chloride, from data collected at 120 K. *International Journal of Pharmaceutics*, 398, 50, 2010.
- PUROHIT, R.; VENUGOPALAN, P. Polymorphism: An Overview. *Reson.*, v.14, n.9, p.882-93, 2009.
- QIU, J. et al. Quantification of febuxostat polymorphs using powder X-ray diffraction technique. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 107, p. 298-303, 2015.
- RAMIREZ, E. et al. Acceptability and characteristics of 124 human bioequivalence studies with active substances classified according to the Biopharmaceutic Classification System. *Br J Clin Pharmacol*. v. 70, p. 694–702, 2010.
- ROBERTSON, J. M. & UBBELOHDE, A. R. Proceedings of the Royal Society of London. Series A, *Mathematical and Physical Sciences*, v. 167 (928), p. 136-147, 1938.
- RODRIGUES, A.G.; GALZERANI, J.C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades (Infrared, Raman and photoluminescence spectroscopies: potentialities and complementarities). *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 34, n. 4, 4309, 2012.
- RODRÍGUEZ-SPONG, B., et al. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: A supramolecular perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 241, 2004.
- ROSA T.C.C., Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ; 2005.

- SAAL, C.; BECKER, A. Orange Book *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, p. 614–623, 2013.
- SANTOS, O. M. M. et al. Structure, Solubility and Stability of Orbifloxacin Crystal Forms: Hemihydrate *versus* Anhydrate. *Molecules*, v. 21, p. 328-347, 2016.
- SHAN, N. et al. Impact of pharmaceutical cocrystals: the effects on drug pharmacokinetics. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, v. 10 p. 1255–1271, 2014.
- SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.*, 71,3–8, 2015.
- SHIMANOVICH, R.; COOKE, M.; PETERSON, M. L. A rapid approach to the preliminary assessment to the physical stability of pharmaceutical hydrates. *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 101, n. 10, 2012.
- SHIMIDT, R. et al. Effect of Reaction Parameters on the Synthesis of 5-Arylidene Barbituric Acid Derivatives in Ball Mills. *Org. Process Res. Dev.*, 19 (3), p. 427–436, 2015.
- SILVERSTEIN, R. M. et al. Spectrometric identification of organic compounds. John Wiley & Sons, 2014.
- SHINGAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Adv. Drug Deliver. Rev.*, v. 56, n. 3, p. 335-7, 2004.
- SOHN, Y. T.; LEE, Y. H. Polymorphism of Doxazosin Mesylate. *Archives of Pharmacal Research*, v. 28 (6), p. 730-735, 2005.
- STEINHILBER, D.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; ROTH, H. J. *Medizinsche Chemie. Deutscher Apotheker Verlag*, 2005.
- SUN, Zhihong et al. Thermodynamic properties of form A and form B of florfenicol. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 53, n. 34, p. 13506-13512, 2014.
- TAKENAKA, H.; KAWASHIMA, Y.; LIN, S. Y. Preparation of enteric coated microcapsules for tableting by spray drying technique and in vitro simulation of drug release from the tablet in GI tract. *J. P. Sciences*, v. 69, p. 1388-1392, 1980.
- TAN, D.; LOOTS, L.; FRISCIC, T. Towards medicinal mechanochemistry: evolution in the development of a formulation candidate for biowaiver. *J Therm Anal Calorim*, v. 120, p. 771–781, 2015.
- TELEGINSKI, L. K. et al. Fluconazole–excipient compatibility studies as the first step in the development of a formulation candidate for biowaiver. *J Therm Anal Calorim*, v. 120, p. 771–781, 2015.

- THAKUR, A. et al. Exploration of crystal simulation potential by fluconazole isomorphism and its application in improvement of pharmaceutical properties. *Journal of Crystal Growth*, v. 406, p. 18–25, 2014.
- THIRUVENGADAM, E.; VELLAISAMY, G. Polymorphism in pharmaceutical ingredients A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 3, n.1, p. 621-633, 2014.
- TIAN, F., et al. Factors affecting crystallization of hydrates. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 62, p. 1534-1546, 2010.
- USP 42. United States Pharmacopeia National Formulary—USP 42 NF 37; U.S. Pharmacopeial Convention: Rockville, MD, USA, 2019.
- VANGALA, V. R.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. The solvates and salt of antibiotic agent, nitrofurantoin: structural, thermochemical and desolvation studies. *CrystEngComm*, 15, 878, 2013.
- VEGA, D.; BAGGIO, R.; GARLAND, M. T. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* v. 52, p. 2198, 1996.
- VIANA, A. L. M. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glimepiride polymorphs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 553, p. 272–280, 2018.
- VILLIERS, M. M. et al. Variable-temperature X-ray powder diffraction analysis of the crystal transformation of the pharmaceutically preferred polymorph C of mebendazole. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 38, p. 435–441, 2005.
- VIOGLIO, P. C.; 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, 2017.
- VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. W. Crystalline solids. *Adv. Drug Deliver. Rev.*, v. 48, n. 1, p. 3-26, 2001.
- WALSH, T. J. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, v. 46, p. 327-360, 2008.
- WHO, Polymorphism-Draft chapter for the International Pharmacopoeia. Working document QAS/17.716/Rev.1, 2018.
- WÖHLER AND LIEBIG, *Ann. Pharm.*,3(3), 249, 1832.
- YORK, P. Solid-state properties of powders in the formulation and processing of solid dosage forms. *I. J. of Pharmaceutics*, v. 14, p. 1-28, 1983.

YU, L. X. et al. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. *I. J. Pharm.*, v. 270, p. 221-227, 2004.

YU, L. X. et al. Scientific Considerations of Pharmaceutical Solid Polymorphism in Abbreviated New Drug Applications. *Pharmaceut. Res.*, v. 20, n. 4, p. 531-6, 2003.

YURTDAS, G.; DEMIREL, M.; GENÇ, L. Inclusion complexes of fluconazole with  $\beta$ -cyclodextrin: physicochemical characterization and in vitro evaluation of its formulation. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, v. 70, p. 429–435, 2011.

ZACCARO, J., et al. Nonphotochemical, laserinduced nucleation of supersaturated aqueous glycine produces unexpected gamma-polymorph. *Crystal Growth & Design*, 1, 5, 2001.

ZHANG, H. -Z. et al. Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel benzimidazole type of Fluconazole analogues and their synergistic effects with Chloromycin, Norfloxacin and Fluconazole. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 64, p. 329-344, 2013.

# **ANEXO I**

# Doxazosin Free-Base Structure Determination and Its Equilibrium Solubility Compared to Polymorphic Doxazosin Mesylate Forms A and H

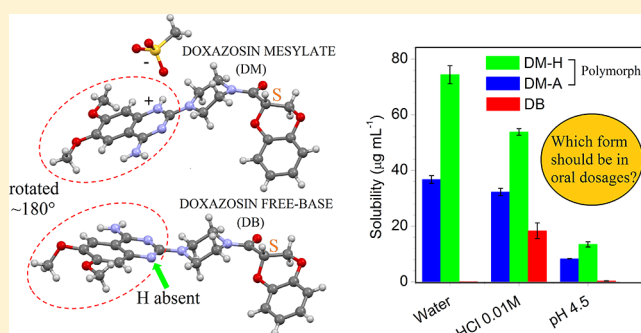
Edeilson V. Gonzaga,<sup>†</sup> Sara S. Vieira,<sup>‡</sup> Jéssica L. J. Vilaca,<sup>‡</sup> Mayra Guerra,<sup>‡</sup> Marina G. Evangelista,<sup>‡</sup> Iara M. L. Rosa,<sup>‡</sup> Mariana M. Figueiredo,<sup>‡</sup> Olímpia M. M. S. Viana,<sup>†</sup> and Antonio C. Doriguetto<sup>\*,‡,†</sup>

<sup>†</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, and <sup>‡</sup>Institute of Chemistry, Federal University of Alfnas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 701, Alfnas, Minas Gerais 37130-001, Brazil

## Supporting Information

**ABSTRACT:** Doxazosin mesylate (DM) is a class II drug in the Biopharmaceutics Classification System (BCS) that is used in several types of hypertension treatments. DM presents almost 20 different polymorphs described in literature/patents, whose existence are usually supported by powder X-ray diffraction (PXRD) data. However, only the crystal form termed as polymorph A (DM-A) and one hydrated DM form present determined crystal structures. Despite its BCS class II classification, there is no preconized DM form for solid oral dosages in pharmaceutical compendia or literature. Also, there are few works comparing the solubility or dissolution rate of DM polymorphs or other solid-state doxazosin forms.

This work aimed to describe for the first time the crystal structure of the doxazosin free-base (DB), which was determined here by single-crystal X-ray diffraction. The DB crystal structure was compared to the two known DM crystal structures (DM-A and DM dihydrate) previously determined by PXRD approaches. Additionally, the equilibrium solubility of the DB form was investigated and compared to the two polymorphic DM forms (DM-A and DM-H) in five aqueous media: pure water, 0.01 mol L<sup>-1</sup> HCl, and pH 4.5, 5.8, and 7.2 phosphate buffers. Thermal analyses of DB, DM-A, and DM-H were also performed. The DB form had significant solubility only in the HCl medium, but it was less soluble than either DM-A or DM-H. The three forms demonstrated to be practically insoluble in the slightly acid-neutral pH range (pH 5.8 and 7.2 phosphate buffers). DM-A was shown to be more stable (higher melting point) and, consequently, less soluble (from 1.6- to 2-fold) than DM-H. The very low solubility of doxazosin free-base in water demonstrates the need to use its salt multicomponent crystal forms modifications to improve the drug solubility. Additionally, this study suggests DM-A as the polymorph that should be preconized for marketable solid oral dosages containing DM.



## 1. INTRODUCTION

Active pharmaceutical ingredients (API) can be found in the solid state as crystalline or amorphous forms.<sup>1,2</sup> Solid phases containing an API can also be classified as single-component or multicomponent forms.<sup>3,4</sup> Single-component forms contain only the API molecule, whereas in multicomponent forms the API share the same crystal structure with one or more chemical entity such as water, solvent, ions, and cofomer (nonionized compound that is solid in its pure form at ambient conditions), which are termed hydrates, solvates, salts, and cocrystal, respectively.<sup>4–6</sup> A recent classification entailed seven subclasses based on the residue types in multicomponent crystals:<sup>7,8</sup> (i) true solvate, (ii) true salt, (iii) true cocrystal, (iv) salt solvate, (v) cocrystal solvate, (vi) cocrystal salt, and (vii) cocrystal salt solvate. Finally, either single-component or multicomponent crystal forms can exhibit polymorphism phenomenon that is defined as the ability of a compound to crystallize in more than one crystal structure.<sup>4,7</sup>

The different intermolecular interactions (or lattice stabilization forces) exhibited by different crystal forms of an API, including single- and multicomponent forms as well as their polymorphs, can result in changes in their physicochemical properties, for example, melting point, tableting behavior, stability, impurity profiles, hygroscopicity, crystal habit, solubility, and dissolution rate.<sup>5,9–11</sup> Since the solubility and dissolution behavior are directly correlated to the bioavailability and, consequently, to drug efficacy, the exact crystal form present in pharmaceutical supplies (both APIs and excipients) and medicines should be known, mainly for those containing APIs with low water solubility.<sup>5,12,13</sup> The process of choice for ideal manufacturing of a solid form of an API is usually based on stability and solubility criteria.<sup>14</sup> Several drugs

Received: September 2, 2018

Revised: December 17, 2018

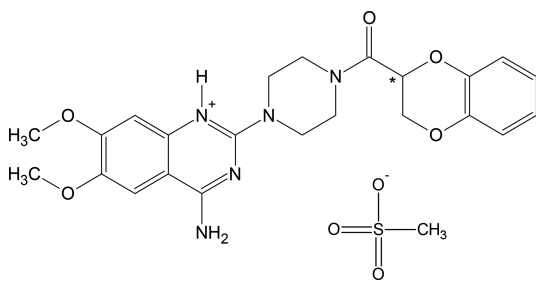
Published: January 2, 2019

are designed as lipophilic bases or acids and, thus, present very low aqueous solubility in water.<sup>15,16</sup> This challenge is often overcome using salt forms when organic functional groups able to accept or donate protons are present in the API lipophilic molecule (free-acid, free-base, or amphoteric).<sup>7,16–20</sup> These well-known and frequent solid-state modifications are used mainly to optimize solubility and dissolution rates.<sup>21</sup> It has been emphasized that, of all the chemically well-defined APIs used in oral formulations listed in the Orange Book database published by the U.S. Food and Drug Administration (FDA), 53.2% are nonsalt forms, 37.9% are salts formed from molecules exhibiting basic properties, and 8.9% are salts formed from entities with acidic behavior.<sup>17</sup> The important counterions for oral delivery comprise, among others, the anions: chloride, sulfate, maleate, and mesylate, and the cations: sodium, potassium, magnesium, and calcium.<sup>17</sup> Currently, the crystal engineering of multicomponent forms of APIs having at least one coformer as residue (true cocrystal or cocrystal solvate, or cocrystal salt or cocrystal salt solvate) have also been intensively studied to improve physicochemical properties.<sup>17,18</sup>

The stability of the solid form used as an API is also an important criterion of choice. Therefore, it is important to probe the possibility of solid-state phase transition, such as crystallization/amorphization, hydration/dehydration/rehydration, and polymorphic transitions during either the API and drug manufacturing or their storage to avoid potential problems in effectiveness of the pharmaceutical products.<sup>22,23</sup> This criterion together the propensity for crystalline hydrate formation by molecular compounds explains a huge number of API hydrates in medicines.<sup>24–26</sup>

Doxazosin, (*R,S*)-[4-(4-amino-6,7-dimethoxy-quinazolin-2-yl) piperazin-1-yl]-(2,5-dioxabicyclo[4.4.0] deca-6,8,10-trien-4-yl) methanone (*R,S*)-2-{4-[(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-2-yl)carbonyl]piperazin-1-yl}-6,7-dimethoxyquinazolin-4-amine, is a drug of the quinazolines class that acts by selectively inhibiting the  $\alpha$ -1 subtype of  $\alpha$ -adrenergic receptors and is widely used alone or in combination with others drugs in hypertension and/or benign prostatic hyperplasia treatments.<sup>27–30</sup> It was introduced on the market in 1990 by Pfizer in its mesylate salt form (Scheme 1) under the brand

**Scheme 1. Molecular Structure of Doxazosin Mesylate (DM)**



names Cardura and Carduran.<sup>31,32</sup> Therefore, doxazosin is marketed as a true salt-type multicomponent crystal.<sup>7,8</sup> Since it is the salt of a weakly basic drug with a  $pK_a$  of 6.93 at 25 °C (product monograph Cardura, Pfizer),<sup>33–35</sup> its solubility is expected to be pH-dependent.

A number of polymorphic forms have been claimed in patents<sup>36–48</sup> and reported in articles<sup>28–30,49</sup> for the doxazosin mesylate salt (hereafter DM). In 1995, the first work was

published describing different polymorphs of DM, in which three forms were claimed and termed as Forms A, B, and C.<sup>49</sup> Subsequently, the forms labeled as Forms I,<sup>36,40</sup> II,<sup>37,41</sup> and III<sup>38,42</sup> were claimed in six patents by Heumann Pharma, and the occurrence of the Forms D and E was published.<sup>43,45,47</sup> Simultaneously, another form, namely, “Crystalline Form” not using the scheme labeling of A, B, C, ... or I, I, II, ... was claimed.<sup>39</sup> Some subsequent patents have claimed processes for preparing the different forms previously reported.<sup>43–47</sup> In general, polymorphs are designated by the chronological order in which they are reported.<sup>22</sup> However, as a consequence of the absence of nomenclature rules for polymorphs, the designation of those occurring for DM is a good example of different polymorphic denotation sequences. Independently of adopting the same sequence (usually numerical 1, 2, 3, ... or I, II, III, ... or alphabetic A, B, C, .../ $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , ...), different polymorphs are commonly found in the literature with the same designation or the same polymorph being differently labeled. This is also the case for the DM polymorphs, since it is easy to conclude, for example, that the Chernyshev’s Form A<sup>28</sup> and Grafe and Morsdorf’s Form III<sup>38,42</sup> present the same crystal structure when comparing their powder X-ray diffraction (PXRD) patterns. In this way, for the specific case of the DM, there was an initiative of Grčman et al.<sup>30</sup> in 2002 to harmonize the sequential designation of its polymorphs by relabeling the numerical sequence I, II, and III to alphabetical G, H, and A, respectively.<sup>30</sup> These same authors<sup>30</sup> have designated the “Crystalline Form”<sup>39</sup> as Form F and have claimed two new polymorphs, which were termed Forms E and I. Some years later, another work described nine forms of DM arguing that their PXRD patterns were different from those previously reported in the literature. These nine supposedly new polymorphs were designated by Arabic numerical sequence as Forms 1–9.<sup>29</sup> More recently, a fourth form adopting the Roman numerical sequence was termed Form IV, considering that its PXRD pattern was not comparable with previous forms.<sup>48</sup> Therefore, currently the literature suggests the existence of almost 20 different polymorphs for DM, which are summarized in Table S1 (Supporting Information).

Despite the huge number of polymorphs claimed for DM, only one crystalline structure is known, which confirms the existence of the DM Form A<sup>28</sup> (or form III,<sup>38,42</sup> Table S1, Supporting Information). Beyond the anhydrous salt form, the structure of a DM dihydrate form is also known.<sup>28</sup> Since the hydrated form was obtained following the method described to obtain the Form G (or form I,<sup>36,40</sup> Table S1, Supporting Information), it was termed as Form dG (d = dihydrate).<sup>28</sup> Surprisingly, no crystal information is available in the literature for doxazosin free-base as a single-component crystal form or solvated/hydrated crystal forms.

DM is considered a class II drug in the Biopharmaceutics Classification System (BCS) with poor aqueous solubility and high permeability with reduced bioavailability without specifying the polymorphic form.<sup>16,31,32,50–54</sup> In fact, despite the polymorphism phenomena associated with DM and the occurrence of different DM polymorphs at least in raw materials<sup>30</sup> there is no preconized crystal form to be in oral solid dosages. Since pharmaceutical companies usually will not market unstable drug forms, the most stable polymorphic form of the drug substance is normally used to make the drug product.<sup>1,2</sup> A study has compared the stability of five different DM polymorphs (A, D, F, G, and H) from four different commercial suppliers showing that the DM Form A (highest

melting temperature) was the most stable polymorph, whereas the DM Forms D and H (lowest melting temperature or undergo crystalline phase transition) were the most unstable.<sup>30</sup>

Here, we present for the first time the crystal growth, crystal structure, and thermal properties of the doxazosin free-base. The present contribution also attempted to investigate the equilibrium solubility (five different aqueous media in physiological pH range) of the doxazosin free-base compared with the more stable DM polymorph known as DM Form A.<sup>30</sup> Interestingly the metastable DM Form H<sup>30</sup> (or form II,<sup>37,41</sup> Table S1, Supporting Information) was identified as the crystal form present in the raw material acquired for this work and was also used (as received) in the equilibrium solubility study. The DM Form A and doxazosin free-base were obtained as pure polycrystalline materials from DM Form H by crystallization/neutralization procedures.

## 2. EXPERIMENTAL SECTION

### 2.1. Samples. 2.1.1. Doxazosin Mesylate Salt Form H (DM-H).

Raw material of doxazosin mesylate was acquired from the supplier Gemini Goiás, Brazil (batch DM0020313) and was identified by PXRD data (see Discussion) as being the DM Form H (hereafter DM-H).<sup>30</sup> Unfortunately, several attempts using different crystal growth protocols to obtain DM-H single crystals good enough for a single-crystal X-ray diffraction experiment were unsuccessful. Attempts to determine the DM-H crystal structure from powder X-ray diffraction data were also unsuccessful.

**2.1.2. Doxazosin Mesylate Salt Form A (DM-A).** To obtain DM Form A (hereafter DM-A), 250 mg of the commercially available API (DM-H) was combined with 25 mL of methanol and heated at 45 °C for 15 min in an ultrasonic bath. The precipitate was filtered and stored without direct incidence of light. The obtained polycrystalline material was analyzed by PXRD (see Discussion) confirming a single-phase solid material identified as DM-A.

**2.1.3. Doxazosin Free-Base (DB).** To obtain the doxazosin free-base (hereafter DB), 270 mg of the commercially available API (DM-H) was solubilized at room temperature in 15 mL of methanol. The solution was sonicated in an ultrasonic bath for 15 min and neutralized with 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH. The solution was filtered into a flask, which was capped with a plastic film containing holes. After 2 d, the crystalline material deposited on the flask bottom was separated from the mother liquor by filtration. Some single crystals good enough for single-crystal X-ray diffraction could be separated from the crystallized sample. The remaining sample was separated for its characterization and physical-chemical study.

**2.2. Single-Crystal X-ray Diffraction Analysis (SCXRD).** The single-crystal X-ray diffraction measurement for a well-shaped DB crystal of was performed at low temperature (150 K) on an Oxford-Diffraction GEMINI diffractometer (Oxford Diffraction) equipped with an Atlas CCD detector using Graphite-Enhance Source Mo K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). The programs CrysAlis CCD and CrysAlis RED<sup>55</sup> were used for data collection, cell refinement, data reduction, and multiscan method absorption correction. The structure was determined using the direct method of structure factors phase retrieval using the software SHELXS-2018/3<sup>56</sup> and refined by a full-matrix least-squares on  $F^2$  using the software SHELXL-2018/3.<sup>56</sup> All non-hydrogen atoms were found from the electronic density map constructed by Fourier synthesis and refined with anisotropic thermal parameters. The hydrogen atoms bonded to carbons and nitrogen atoms were stereochemically positioned following a riding model with fixed C–H (or N–H) bond lengths of 0.88, 0.95, 0.98, 0.99, and 1.00 Å for the amino, aromatic, methyl, methylene, and methine groups, respectively. The isotropic thermal parameters of all hydrogens depended on the equivalent isotropic thermal displacements of the atoms bonded to them [ $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2U_{\text{eq}}(\text{N}_{\text{-amino}}, \text{C}_{\text{-aromatic}}, \text{C}_{\text{-methylene}}, \text{C}_{\text{-methine}})$  or  $1.5U_{\text{eq}}(\text{C}_{\text{-methyl}})$ ]. A slight disorder involving the position of the C16 and C23 atoms could be present but not pronounced enough to warrant disorder refinement. The software

WinGX<sup>57</sup> was used to configure the crystallographic data and generate tables. The MERCURY<sup>58</sup> and ORTEP-3<sup>59</sup> software programs were used for crystallographic analysis and artwork representations. The crystal data and details of data collection and refinement are shown in Table 1. CCDC 1864608 contains the supplementary crystallographic

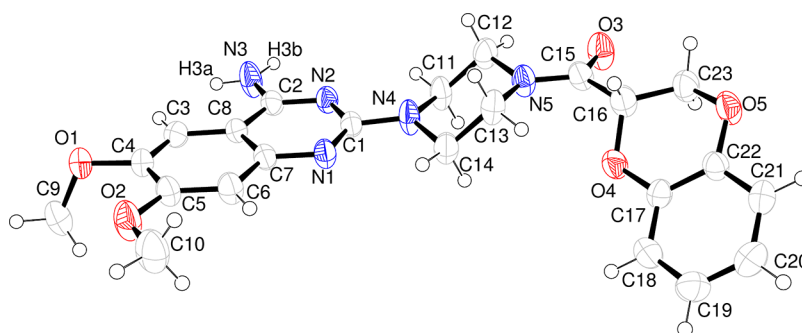
**Table 1. Crystal Data and Structure Refinement for DB**

|  |   |
|--|---|
| empirical formula                                | C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>   |
| formula weight                                   | 451.48  |
| temperature                                      | 150(2) K  |
| wavelength                                       | 0.71073 Å   |
| crystal system                                   | triclinic   |
| space group                                      | $P\bar{1}$  |
| unit cell dimensions                             | $a = 9.1195(6) \text{ \AA}$ , $\alpha = 77.602(6)^\circ$<br>$b = 10.8523(8) \text{ \AA}$ , $\beta = 73.020(6)^\circ$<br>$c = 11.8368(8) \text{ \AA}$ , $\gamma = 78.865(6)^\circ$ |
| volume   | 1083.45(14) Å <sup>3</sup>  |
| Z  | 2   |
| density (calculated)                             | 1.384 Mg m <sup>-3</sup>  |
| absorption coefficient                           | 0.100 mm <sup>-1</sup>  |
| $F(000)$   | 476   |
| crystal size                                     | 0.02 × 0.12 × 0.25 mm <sup>3</sup>  |
| theta range for data collection                  | 1.940 to 25.004°  |
| index ranges                                     | $-10 \leq h \leq 10$ , $-12 \leq k \leq 12$ , $-14 \leq l \leq 14$  |
| reflections collected                            | 11 697  |
| independent reflections                          | 3804 [ $R(\text{int}) = 0.0453$ ]   |
| completeness to theta<br>$\alpha = 25.004^\circ$ | 100%  |
| refinement method                                | full-matrix least-squares on $F^2$  |
| data/restraints/parameters                       | 3804/0/300  |
| goodness-of-fit on $F^2$                         | 1.032   |
| final R indices [ $I > 2\sigma(I)$ ]             | $R1 = 0.0511$ , $wR2 = 0.1132$  |
| R indices (all data)                             | $R1 = 0.0930$ , $wR2 = 0.1410$  |
| largest diff peak and hole                       | 0.370 and $-0.224 \text{ e \AA}^{-3}$   |

data for this paper. The data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) via [www.ccdc.cam.ac.uk/getstructures](http://www.ccdc.cam.ac.uk/getstructures).<sup>60</sup>

**2.3. Powder X-ray Diffraction Analysis (PXRD).** PXRD data were recorded at room temperature (298 K) using an Ultima IV diffractometer (Rigaku) with  $\theta$ – $2\theta$  geometry. Cu K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ) was generated using a sealed tube at 40 kV and 30 mA. The data were collected with a step size of  $0.02^\circ$  in  $2\theta$ . The speed of scanning was  $1^\circ 2\theta \text{ min}^{-1}$ , from  $3^\circ$  to  $35^\circ$  in  $2\theta$ . The samples were finely ground and mounted on a grooved glass slide employed as a sample holder. The experimental PXRD patterns were compared with those calculated by importing the crystal structures determined for the DM-A (CCDC code: ULIYET)<sup>28</sup> and DB (determined here) into MERCURY. The calculated PXRD pattern of the known crystal structure (CCDC code: ULIYIX)<sup>28</sup> of the doxazosin mesylate dihydrate (Chernyshev's Form dG that will hereafter be called DM-2H<sub>2</sub>O) was also used to probe its inadvertent presence in the samples studied here. The DB PXRD pattern calculated from low-temperature crystal structures (150 K, see Table 1) was, as expected, slightly shifted (right direction) from the experimental patterns performed at room temperature (298 K). Since the crystal structure of the DM-H is unknown, the experimental DM-H PXRD pattern collected here was compared with an experimental one previously reported.<sup>30</sup>

**2.4. Thermal Analysis.** Differential scanning calorimetry (DSC) curves were obtained on a DSC Q20 V24.11 Build 124 unit (TA Instruments) under a dynamic atmosphere of nitrogen (50 mL min<sup>-1</sup>) with a heat flow of  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  from 35 to 500 °C using open aluminum crucibles with  $\sim 2$  mg of sample. The instrument was calibrated with an indium standard. Thermogravimetric analysis (TGA) and differential thermal analysis (DTA) curves were obtained on an SDT Q600 V20.9 Build 20 unit (TA Instruments) using open



**Figure 1.** Ellipsoid plot of DB with arbitrary atom labeling. The H atoms are represented as arbitrary radius spheres, and the ellipsoids of the non-H atoms are at the 50% probability level.

aluminum crucibles, a heating rate of  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  from 35 to  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a nitrogen flow of  $50\text{ mL min}^{-1}$ , and  $\sim 12\text{ mg}$  of sample.

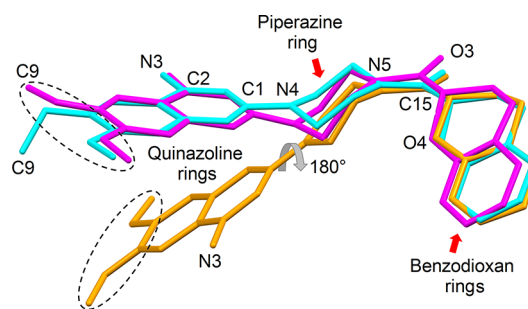
**2.5. Equilibrium Solubility.** The solubilities of DM-H, DM-A, and DB at equilibrium were individually determined in different aqueous media using the equilibrium method.<sup>61</sup> Five aqueous media were used to determine the equilibrium solubilities in accordance with Resolution No. 031/2010 and Technical Note No. 003/2013,<sup>61,62</sup> namely, ultrapure water,  $0.01\text{ mol L}^{-1}$  HCl, and pH 4.5, 5.8, and 7.2 phosphate buffers. The samples of DM-H, DM-A, and DB were sieved and individually placed in 10 mL flasks containing 3 mL total volume of each medium under study. The solutions were prepared in triplicate. They were vortexed until the formation of a residual solid material at the bottom of the flask. The flasks were agitated at 150 rpm and  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  over 24 h on a refrigerated incubator with orbital shaking, model MA 830/A (MARCONI). After the stirring process, the samples were filtered through a poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) syringe filter (filter diameter of 13 mm and pores of  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ), and the final pH of each solution was measured. The amount of doxazosin dissolved in the supernatant was dosed from pharmacopoeia method by high-performance liquid chromatography (HPLC).<sup>63</sup> The solid part was separated from the solution and dried in a desiccator containing silica for 7 d, followed by PXRD analysis to verify whether the resulting material was the same as the starting material.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

**3.1. Crystal Structure of the Doxazosin Free-Base (DB).** Figure 1 shows an ellipsoid plot of DB. The N1 nitrogen atom is deprotonated, which was supported by the Fourier-difference maps (Figure S1, Supporting Information), being consistent with the intended doxazosin free-base. As expected, it was observed that its quinazoline ring, including O1, O2, N3, and N4, is very planar. The root-mean-square deviation (rmsd) of the least-squares plane through the two fused-rings atoms is  $0.0160$ . The largest deviation from the calculated least-squares plane considering the first neighbor atoms linked to the quinazoline ring occurs for N4 ( $-0.112(3)\text{ \AA}$ ). Considering the carbon atoms of the two methoxyl groups, C10 lies ( $-0.090(5)\text{ \AA}$ ) in the quinolone ring least-squares plane, whereas C9 deviates significantly from it ( $1.125(4)\text{ \AA}$ ). This difference can also be illustrated by the respective torsion angles ( $\text{C6-C5-O2-C10} = 1.5(4)^{\circ}$  and  $\text{C3-C4-O1-C9} = 106.9(3)^{\circ}$ ). Conversely, Chernyshev et al.<sup>28</sup> showed that in the structures for DM-A and DM dihydrate ( $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) both their methoxyl groups are coplanar to the quinazoline ring. The piperazine ring has a classical chair conformation, which was confirmed by the Evans and Boeyens conformational analysis.<sup>64</sup> The N4-C1, N5-C15, C11-H11a, C12-H12a, C13-H13b, and C14-H17b bonds are in the equatorial positions, whereas the remaining piperazine ring bonds are axial. Chernyshev et al.<sup>28</sup> emphasized that the main conforma-

tional differences when comparing the DM-A and  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  structures are associated with the piperazine rings, arguing that the piperazine ring in  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  has a classical chair conformation, while in DM-A its conformation can be classified as a distorted chair. The C16 and C23 atoms in DB deviate  $0.462(3)$  and  $-0.261(3)\text{ \AA}$ , respectively, from the least-squares plane ( $\text{rmsd} = 0.0146$ ) through the aromatic moiety and oxygen atoms of the benzodioxan ring. The absence of a symmetrical ring form was confirmed by the Evans and Boeyens conformational analysis<sup>64</sup> for the dioxin ring that presents C16-C15, C22-C21, C17-C18, and C23-H23b bonds in equatorial and C16-H16 and C23-H23a bonds in axial positions.

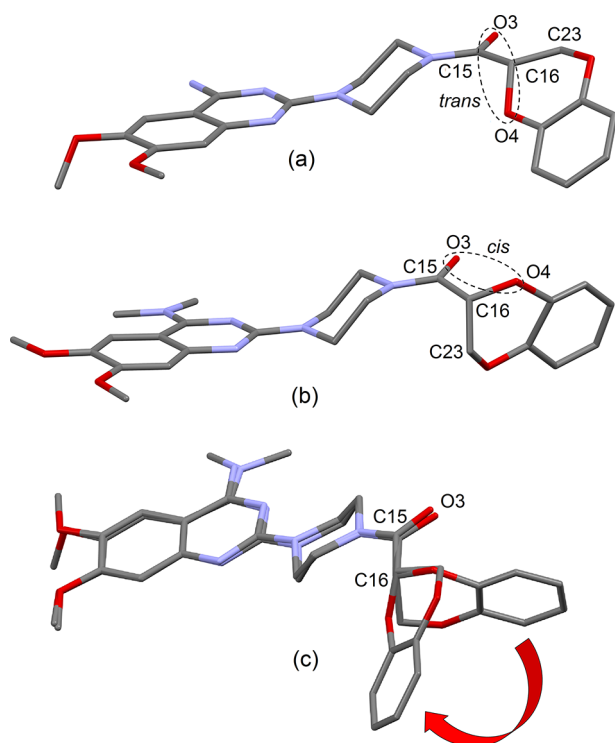
Before comparison of the intramolecular structures of DB, DM-A, and  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , which are crystallized, respectively, in the  $P\bar{1}$ ,  $C2/c$ , and  $P2_1/c$  space groups, it is important to emphasize that all of them are racemic crystals, since doxazosin is a chiral molecule (C16 is an asymmetric carbon center) crystallized in centrosymmetric space groups. That means their crystals contain an equimolecular mixture of the doxazosin *R* and *S* enantiomers (Figure S2, Supporting Information). Figure 2 shows the overlay of the DB backbone of the two known mesylate forms arbitrarily taking their respective *S* enantiomers. It is observed that the DB intermolecular geometry is more similar to  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . On the one hand, the molecule calculation overlay<sup>58</sup> considering all homologous atoms of DB and  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  returns an rmsd of  $0.5078$ , with a



**Figure 2.** Overlay of the complex backbones of DB (cyan),  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (magenta), and DM-A (orange). The structures of DB and  $\text{DM}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  were matched considering all homologous non-hydrogen atoms using the Mercury molecule overlay calculation without flexibility and inversion options. The structures of DB and DM-A were matched without considering the homologous quinazoline moiety atoms using the Mercury structure overlay calculation. The hydrogens were omitted for clarity. Dashed black circles highlight the planarity or nonplanarity of the methoxyl moieties.

maximum distance of homologous atoms of 1.761 Å for C19 as a consequence of its non-coplanarity to the quinazoline ring in the DB. On the other hand, the quinazoline moiety of the DM-A is rotated  $\sim 180^\circ$  around the C1–N4 compared to the DB and DM·2H<sub>2</sub>O forms. Therefore, DB and DM·2H<sub>2</sub>O have their respective C15–O3 bonds *syn* to the C2–N3 bond, whereas for DM-A these bonds are *anti* to each other. Considering only the piperazine and benzodioxan rings, it is observed that the three structures match each other (Figure 2). The matching of the piperazine and benzodioxan rings of the DM·2H<sub>2</sub>O and DM-A structures is in disagreement with the Chernyshev et al.<sup>28</sup> discussion, where they argued that the two mesylate forms differ by the rotation of the carboxamide  $180^\circ$  around the N5–C15 bond. This apparent rotation was probably considered by those authors, due to the choice of opposing enantiomers, as asymmetric units of the DM·2H<sub>2</sub>O (ULIYX CIF file contains the *S* isomer coordinates) and DM-A (ULIYET CIF file contains the *R* isomer coordinates) to permit the match of the quinazoline moiety.

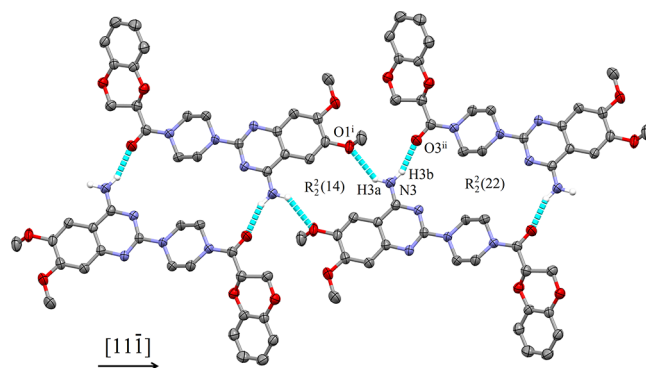
The intramolecular structure of DB can also be compared to the known structure of the doxazosin 4-dimethylamino analogue (6,7-dimethoxy-4-(dimethylamino)-2[-4-(1,4-benzodioxan-2-ylcarbonyl)piperazin-1-yl]quinazoline hydrochloride salt),<sup>27</sup> which is also a racemic crystal. Different from the DB and the known mesylate forms, the 4-dimethylamino analogue shows the dioxin ring O4 atom *cis* to the carboxyl O3 atom (Figure 3). Therefore, in this case a rotation of the benzodioxan ring around the N15–C16 bond is actually observed when DB (and either DM·2H<sub>2</sub>O or DM-A) is



**Figure 3.** Views of the molecular backbones of DB (a) and the doxazosin 4-dimethylamino analogue<sup>27</sup> (b) showing the *cis*–*trans* isomerism involving the O3 and O4 atoms. In (c), the two backbones are overlaid highlighting that the two structures differ by the rotation of their benzodioxan rings around the N15–C16 bond. The hydrogens were omitted for clarity. Dashed black circles highlight the different isomers.

compared to the 4-dimethylamino analogue.<sup>27</sup> As a consequence of this rotation, the overlaid structures are, of course, opposite enantiomers (*S* + *R* as in Figure 3 or *R* + *S*). Another remarkable structural feature is the coplanarity of both methoxyl carbon atoms of the 4-dimethylamino analogue structure to its quinazoline ring as observed for DM-A and DM·2H<sub>2</sub>O but not to DB.

Taking into account now the DB packing, the strongest intermolecular H bond (N3–H3b···O3<sup>ii</sup>) stabilize a supramolecular dimer containing molecules related by the inversion symmetry (Figure 4, Table 2). The *synthons* packing



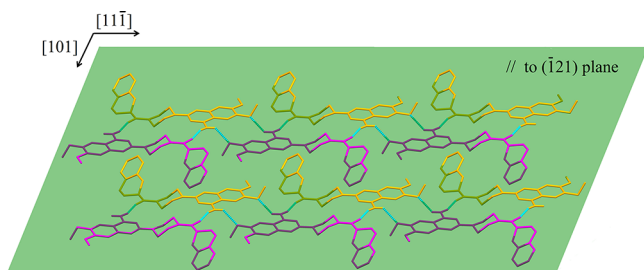
**Figure 4.** Ellipsoid representation of the partial packing of the DB viewed normal to the  $(\bar{1}21)$  plane (horizontal and vertical direction parallel to  $[11\bar{1}]$  and  $[101]$ , respectively) showing the H bond pattern that stabilizes a one-dimensional infinite network (a double chain) along the  $[11\bar{1}]$  direction. H bond represented by cyan dashed lines. H atoms not involved in the H bonds were omitted for the sake of clarity. Symmetry codes: <sup>i</sup>  $-x + 2, -y + 2, -z - 1$ ; <sup>ii</sup>  $-x + 1, -y + 1, -z$ .

**Table 2.** Hydrogen Bonds for DB (Å and deg), where D = Donor and A = Acceptor<sup>a</sup>

| D–H···A                       | d(D–H) | d(H···A) | d(D···A) | $\angle(\text{D–H–A})$ |
|-------------------------------|--------|----------|----------|------------------------|
| N3–H3a···O1 <sup>i</sup>      | 0.88   | 2.36     | 3.103(3) | 142.5                  |
| N3–H3b···O3 <sup>ii</sup>     | 0.88   | 2.04     | 2.876(3) | 157.5                  |
| C23–H23b···O1 <sup>iii</sup>  | 0.99   | 2.57     | 3.420(4) | 143.7                  |
| C13–H13a···Ct1 <sup>iii</sup> | 0.99   | 2.71     | 3.611    | 151.9                  |
| C11–H11b···Ct2 <sup>iv</sup>  | 0.99   | 2.69     | 3.643    | 160.6                  |

<sup>a</sup>d = distance;  $\angle(\text{D–H–A})$  = angle. Ct is an aromatic ring centroid. Symmetry codes, as in Figures 4 and 6. <sup>i</sup>  $-x + 2, -y + 2, -z - 1$ . <sup>ii</sup>  $-x + 1, -y + 1, -z$ . <sup>iii</sup>  $-x + 2, -y + 1, -z$ . <sup>iv</sup>  $-x + 1, -y + 1, -z$ .

along the  $[11\bar{1}]$  (by translation) give rise to a centrosymmetric double chain stabilized by an additional H bond (N3–H3a···O1<sup>i</sup>) involving the second H atom of the amino group having the methoxyl group as acceptor (Figure 4, Table 2). The whole H bond network presents the  $R_2^2(22)$  and  $R_2^2(14)$  graph sets (Figure 4).<sup>65</sup> The double chains are themselves van der Waals connected along the  $[101]$  direction resulting in supramolecular planar layers parallel to the  $(\bar{1}21)$  plane (Figure 5). The layer stacking (Figure S3, Supporting Information) is stabilized by three pairs (the H bonds in each pair are related by inversion symmetry) of nonclassical H bonds (one C–H···O type and two C–H··· $\pi$ -aryl type) involving three methylene carbon atoms (C11, C13, and C23), one methoxyl group, and two aromatic rings (Table 2, Figure 6). Therefore, considering the whole H bond pattern, O1 atom works as bifurcated H bond acceptor from the N3 and C23 donors (Table 2 and Figures 4 and 6). At this moment it can be noted that the



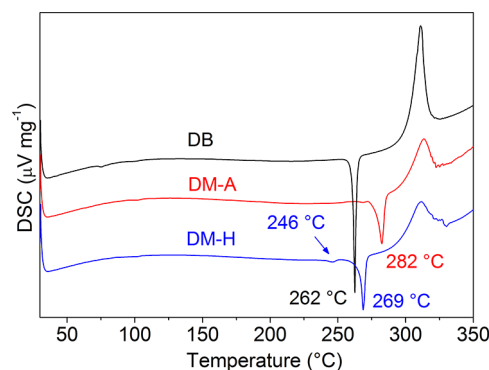
**Figure 5.** View of the DB packing highlighting the supramolecular planar layers (a two-dimensional network highlighted by the least-squares plane (in green) through the molecules in the partial packing) parallel to the  $(\bar{1}21)$ . H bonds are represented by cyan dashed lines.

deviation of the methoxyl C9 carbon atom from the least-squares plane through the quinazoline ring discussed above could be associated with intermolecular hindrance effects involving the methoxyl and amino groups of neighbor molecules (Table 2, Figures 4 and 5).

**3.2. Characterization of the DM-H, DM-A, and DB Bulk Materials.** On the one hand, the experimental PXRD pattern of the DM raw material was compared to the ones calculated for DM-A (CSD CIF file ULIYET),<sup>28</sup> DM $\cdot$ 2H $_2$ O (CSD CIF file ULIYIX),<sup>28</sup> and DB (determined here) crystal structures, showing no correspondence (Figure S4, Supporting Information). On the other hand, the comparison with the experimental patterns reported in the literature led us to consider it as equivalent to the DM-H<sup>30</sup> (or form II,<sup>37,41</sup> Table S1, Supporting Information) (Figure S5, Supporting Information), at least as majority phase. In this way, the DM raw material was labeled here as DM-H. The experimental PXRD pattern of the DM-A bulk material (recrystallization of the DM raw material in methanol, see item 2.1.2) matched the one calculated from the crystal structure of DM-A without evident spurious peaks in the experimental pattern, indicating its achievement as pure polymorphic phase (Figure S6, Supporting Information). Finally, the bulk material expected to be the doxazosin free-base synthesized/recrystallized by pH neutralization from the DM raw material (see item 2.1.3) was confirmed to contain only the DB form by comparing the

experimental and calculated PXRD patterns (Figure S7, Supporting Information).

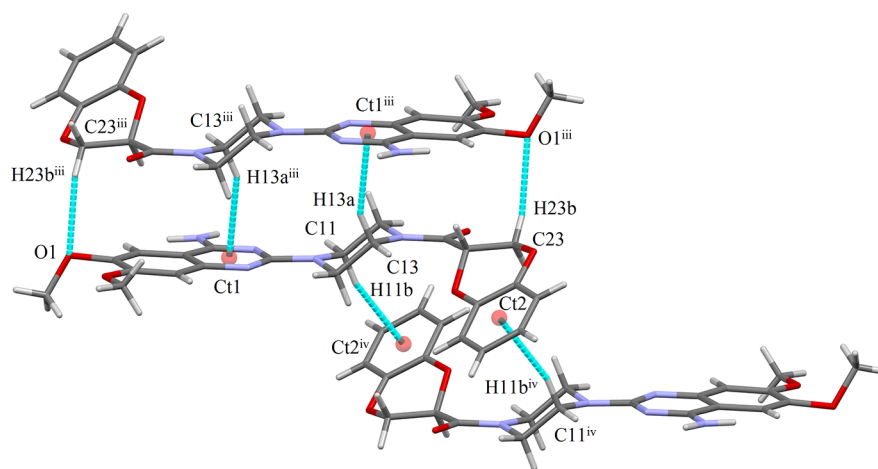
The DSC curves of the DM-A, DM-H, and DB samples (Figure 7) show endothermic sharp peaks at 282 ( $\Delta H_{\text{fusion}} =$



**Figure 7.** DSC curves of the DB, DM-A, and DM-H samples in the range from 30 to 350 °C, at a heating rate of 10 °C min<sup>-1</sup> under N $_2$  flow (50 mL min<sup>-1</sup>).

52.10 mJ mg<sup>-1</sup>), 269 ( $\Delta H_{\text{fusion}} = 49.10$  mJ mg<sup>-1</sup>), and 262 °C ( $\Delta H_{\text{fusion}} = 83.50$  mJ mg<sup>-1</sup>), respectively. Endothermic peaks, as expected, are present in DTA curves of the DM-A, DM-H, and DB samples at comparable temperatures of 280, 266, and 259 °C, respectively (Figure S8, Supporting Information). Since these endothermic peaks in the DSC curves are not accompanied by weight loss in the TGA curves (Figure S8, Supporting Information), they are attributed to the melting of each form. The exothermic peaks above 300 °C in the DSC and DTA curves followed by mass lost in the TGA curves correspond to the decomposition temperatures of the three forms studied here (Figure S8, Supporting Information).

The DM-A fusion temperature observed here is in agreement with those previously attributed to this DM polymorph: 281 °C (US006140334A),<sup>42</sup> 282 °C (US006500830B1),<sup>43</sup> 279 °C (US006399775B1),<sup>45</sup> and 278 °C (Grcman et al.).<sup>30</sup> The lower DSC and DTA melting temperatures observed here for the DM-A form in comparison to the DM-H form agree with the values established for DM Form II (that is equal to Form H) (peak at 266 °C) in the



**Figure 6.** View of the interlayer intermolecular contacts stabilized by nonclassical hydrogen bonds and CH- $\pi$ -aryl interactions. The intermolecular interactions are represented by cyan dashed lines. Ct is the aromatic ring calculated centroid. Symmetry codes as in Table 2: <sup>iii</sup>  $-x + 2, -y + 1, -z$ ; <sup>iv</sup>  $-x + 1, -y + 1, -z$ .

patent US006133269A<sup>42</sup> and to Form H ( $T_{\text{onset}}$  at 258 °C).<sup>30</sup> Additionally, our DM-H sample presents an extra small endothermic peak previous to the fusion observed either in DSC (246 °C) or DTA curves (244 °C), which could indicate the melting of a minority DM phase physically mixed with the bulk material of the DM-H or the DM-H phase transition to another polymorphic form as suggested in the literature.<sup>30</sup>

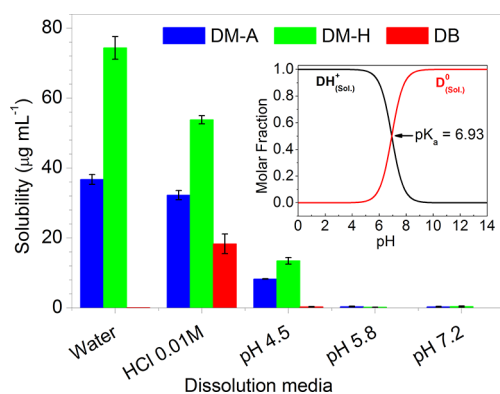
The higher melting point and heat of fusion ( $\Delta H_{\text{fusion}}$ ) of DM-A indicates that it is more thermodynamically stable than DM-H.<sup>66</sup> Therefore, on the one hand, considering that DM-A and DM-H are monotropic polymorphs, DM-H is expected to be more soluble than DM-A, which was confirmed by our solubility results (see Section 3.3). On the other hand, in spite of the lower melting temperature and higher melting enthalpy of DB compared to either DM-A or DM-H, it is expected to be less soluble due to the usually higher solubility of salt forms versus free-base or acid analogues. This trend was also confirmed in our equilibrium solubility studies (see Section 3.3).

**3.3. Equilibrium Solubility.** The equilibrium solubility values for DB, DM-A, and DM-H in the different aqueous media tested here are shown in Table 3. The data are also

**Table 3. Equilibrium Solubility ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) Data for DB, DM-A and DM-H Together with the Final pH at the Equilibrium ( $\text{pH}_f$ ) of Each Solution**

|  | DM-A                | DM-H                | DB                  |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|
| ultrapure water<br>( $\text{pH} = 6.8$ ) | $36.70 \pm 1.39$    | $74.34 \pm 3.22$    | $0.06 \pm 0.00$     |
|  | $\text{pH}_f = 4.0$ | $\text{pH}_f = 3.7$ | $\text{pH}_f = 7.6$ |
| HCl 0.01 M                               | $32.23 \pm 1.31$    | $53.80 \pm 1.16$    | $18.33 \pm 2.80$    |
|  | $\text{pH}_f = 1.9$ | $\text{pH}_f = 1.9$ | $\text{pH}_f = 3.4$ |
| phosphate buffer pH 4.5                  | $8.26 \pm 0.07$     | $13.44 \pm 0.95$    | $0.31 \pm 0.10$     |
|  | $\text{pH}_f = 3.8$ | $\text{pH}_f = 3.5$ | $\text{pH}_f = 5.1$ |
| phosphate buffer pH 5.8                  | $0.36 \pm 0.12$     | $0.20 \pm 0.02$     | ND <sup>a</sup>     |
|  | $\text{pH}_f = 6.1$ | $\text{pH}_f = 6.0$ | $\text{pH}_f = 5.9$ |
| phosphate buffer pH 7.2                  | $0.29 \pm 0.17$     | $0.39 \pm 0.19$     | ND                  |
|  | $\text{pH}_f = 6.2$ | $\text{pH}_f = 5.7$ | $\text{pH}_f = 7.2$ |

<sup>a</sup>ND = not detectable.



**Figure 8.** pH-dependent equilibrium solubility values of DB, DM-A, and DM-H (values and standard deviation in Table 1). (inset) The calculated pH-dependent acid–base doxazosin species distribution.  $\alpha_1 = [\text{DH}^+_{(\text{sol})}]/C = (1 + (K_a/[\text{H}^+]))^{-1}$ ;  $\alpha_0 = [\text{D}^0_{(\text{sol})}]/C = \alpha_1(K_a/[\text{H}^+])$ ; where  $\alpha_0 + \alpha_1 = 1$  and  $C = [\text{DH}^+_{(\text{sol})}] + [\text{D}^0_{(\text{sol})}]$ . Curves show pH in steps of 0.1.

plotted in Figure 8 to highlight the differences comparing forms and media. The equilibrium pH values were measured, and they did not indicate significant alterations considering the media starting pH, excepted for the saturated solutions used to determine the equilibrium solubility of DM-A and DM-H in water (initial pH = 6.8). The pH reduction for these two cases was expected due to the hydrolysis of the cationic doxazosin species released into the solution from DM, which is an acidic salt. At this point, it is important to remember that doxazosin is a weak electrolyte, and its solubility and dissolution depend on the ionization state, which is controlled by both the solution pH and the dissociation constant ( $\text{p}K_a$ ). As discussed in Section 3.1, the formation of a doxazosin free-base (single-component form) or salt (multicomponent salt form) involves the protonation/deprotonation of the N1 nitrogen atom of the doxazosin quinazoline ring (Figure 1). The  $\text{p}K_a$  involving the doxazosin dissociation ( $\text{DH}^+_{(\text{sol})} \rightarrow \text{D}^0_{(\text{sol})} + \text{H}^+$ ) is 6.93.<sup>41,35</sup> Therefore, considering the calculated pH-dependent acid–base doxazosin species distribution (inset in Figure 8), the molar fraction of the more soluble  $\text{DH}^+_{(\text{sol})}$  species will be higher in the acidic pH range than the less soluble  $\text{D}^0_{(\text{sol})}$  species, and vice versa in alkaline pH range.

Our data confirm the trend above considering that the equilibrium solubility in the pH 5.8 and 7.2 phosphate buffers was very low (less than  $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) or not-detectable (ND) irrespective the crystal form. Also as expected, in the buffered media at pH 4.5 the equilibrium solubility of the both salt forms significantly increased, and the DB solubility became at least detectable due to the large amount of  $\text{DH}^+_{(\text{sol})}$  in more acidic solutions. The equilibrium solubility values of the salt forms (DM-H and DM-A) are also higher in water, for which the final pH reach values comparable to those observed in the pH 4.5 buffer. Therefore, on the one hand, for the salt forms the tendency of lower the pH, greater the solubility remains in agreement with part of literature data.<sup>50,52,53</sup> On the other hand, the DB form remained practically insoluble in water, since the  $\text{D}^0_{(\text{sol})}$  species released from the DB crystalline lattice is poorly soluble in water (Table 3). In the  $0.01 \text{ mol L}^{-1}$  HCl medium, again the two salt forms had increased solubility compared to neutral or slightly alkaline media. The difference in HCl medium was the increased solubility also observed for the DB form. This feature can be explained by the conversion of the  $\text{D}^0_{(\text{sol})}$  species to  $\text{DH}^+_{(\text{sol})}$  ones guaranteed by the pH of the HCl  $0.01 \text{ mol L}^{-1}$  medium.

To probe if the starting crystal forms are maintained during the equilibrium establishment, experimental PXRD patterns were collected for the residual solid materials separated from the solutions used to establish the solubility (Figure S9, Supporting Information). The PXRD patterns show that the DB form remains as a unique solid phase irrespective the media. Our results do not confirm the suspicions of its conversion to doxazosin hydrochloride in HCl medium argued in the literature to justify its higher solubility than DM.<sup>16</sup> On the one hand, our PXRD patterns also show that the DM-H and DM-A forms are maintained during equilibria establishments in water and  $0.01 \text{ mol L}^{-1}$  HCl media. On the other hand, some spurious diffraction peaks are present in the PXRD patterns the DM-H and DM-A forms in all three phosphate media, indicating that the both salt forms could undergo a partial conversion to another crystal form (probably a doxazosin phosphate salt) during the equilibrium solubility experiment. Therefore, the equilibrium solubility values

obtained for DB, DM-H, and DM-A in 4.5, 5.8, and 7.2 pH phosphate buffer media could not be considered actual values.

Indeed, beyond the phase transitions, there are two extra complicating factors in data interpretation when the equilibrium solubilities are compared: the coexistence of two different doxazosin pH-dependent species in the studied pH range and the knowledge that different aqueous media (HCl, phosphate buffers, or pure water) present different electrolyte concentrations (ionic strength) to reach different pH values. Therefore, in general terms, we can state that (i) the three forms are practically insoluble or very slightly soluble in neutral and slightly alkaline or acid pH range; (ii) the DB form showed significant solubility only in 0.01 mol L<sup>-1</sup> HCl medium; however, 66% and 43% less soluble than DM-H and DM-A, respectively; and (iii) in the acidic media, where the salt forms had increased solubility, DM-H was always more soluble than DM-A.

The lower solubility of the DB form compared to the DM-A and DM-H forms confirms the expected trend from comparing free-base/acids and salts of the same API. More importantly, comparing the two polymorphic salt forms our results show that DM-H is more soluble than DM-A either in water (~2-fold) or in the acidic (~1.6-fold) media tested here. This result corroborates the expectation pointed out by our thermal analysis (DSC and TGA/DTG), which show that DM-A is more stable than DM-H. Therefore, DM-H is a metastable form of DM, as previously demonstrated for DM Form F, which presents solubility approximately twofold higher than DM Form A at 25 °C, either in ethanol or water.<sup>30</sup>

#### 4. CONCLUSION

On the one hand, the crystal structure of the doxazosin free-base determined here presents significant differences in terms of intramolecular geometry compared to those of the DM-A polymorph as well as the doxazosin 4-dimethylamino analogue hydrochloride. On the other hand, it is conformationally comparable to the DM·2H<sub>2</sub>O polymorph. The packing of DB is stabilized by a two-dimensional H-bond network generating a layered structure. The DSC and TGA/DTG analyses show that DB melts before both DM salt forms, which were confirmed as monotropic polymorphs, with DM-A being more stable (higher melting point) than DM-H. The solubility of the doxazosin crystal forms were confirmed to be strongly dependent on the dissolution medium pH, being low at high pH values and higher at low pH values. Indeed, the three forms demonstrated to be practically insoluble in the neutral pH range tested here. The DB form was practically insoluble in all media except in HCl medium, in which it still less soluble than either the DM-H or DM-A forms. Since DM is a salt of a weakly basic drug, the equilibrium pH of the saturated solutions prepared for dissolving the DM salts in water was acidic (pH ≈ 4), which explains their highest solubility have been reached in water medium. The metastable polymorph (DM-H) is twofold more soluble than the stable polymorph (DM-A) in the acidic pH range. Taking this in account, we suggest the DM-A form as the preconized DM form for solid oral dosages and recommend its polymorphic monitoring either in APIs or commercial tablets by solid-state identification/quantification methods and/or in vitro dissolution tests.

#### ■ ASSOCIATED CONTENT

##### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01323.

Residual density map through the quinazoline ring of DB obtained by difference Fourier synthesis; views of the R and S enantiomers of DB, DM·2H<sub>2</sub>O, and DM-A; TG/DTA curves of the DM-A, DM-H, and DB samples; overall packing of the DB normal to (101); side-by-side comparisons of calculated and experimental PXRD patterns; additional table listing the relevant literature/patent reports with assignments of the corresponding polymorphs of the doxazosin Mesylate using Grcman et al.'s notation<sup>30</sup> (PDF)

##### Accession Codes

CCDC 1864608 contains the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif), or by emailing [data\\_request@ccdc.cam.ac.uk](mailto:data_request@ccdc.cam.ac.uk), or by contacting The Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033.

#### ■ AUTHOR INFORMATION

##### Corresponding Author

\*E-mail: [doriguetto@unifal-mg.edu.br](mailto:doriguetto@unifal-mg.edu.br).

##### ORCID

Antonio C. Doriguetto: 0000-0002-2726-1265

##### Author Contributions

The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript. All authors contributed equally.

##### Notes

The authors declare no competing financial interest.

#### ■ ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the Brazilian funding agencies FAPEMIG (RED-00010-14, APQ-00273-14, APQ-02486-14, PPM-00533-16, and APQ-01835-18), CNPq (448723/2014-0, 308162/2015-3, and 428475/2018-3), FINEP (ref 134/08), and CAPES (PNPD grant and finance Code 001) for financial support. We also thank CNPq (A.C.D., J.L.J.V., and M.M.F.), FAPEMIG (I.M.L.R., M.G.E., and M.G.), and CAPES (E.V.G. and S.S.V.) for research fellowships. The authors express sincere thanks to LabCri-UFMG and NCQ-UNIFAL-MG for the SCXRD and HPLC facilities, respectively.

#### ■ ABBREVIATIONS

API, active pharmaceutical ingredient; BCS, biopharmaceutics classification system; CCDC, The Cambridge Crystallographic Data Center; CSD, Cambridge Structural Database; DSC, differential scanning calorimetry; DTA, differential thermal analysis; DB, doxazosin free-base; DM-A, doxazosin mesylate salt Form A; DM-H, doxazosin mesylate salt Form H; DM·2H<sub>2</sub>O, doxazosin mesylate salt dihydrate; FDA, U.S. Food and Drug Administration; PXRD, powder X-ray diffraction; SCXRD, single-crystal X-ray diffraction analysis; TGA, thermogravimetric analysis.

## REFERENCES

- (1) Lu, J.; Rohani, S. Polymorphism and crystallization of active pharmaceutical ingredients (APIs). *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 884–905.
- (2) Byrn, S. R.; Pfeiffer, R. R.; Stowell, J. G. *Solid-State Chemistry of Drugs*; SSCI: West Lafayette, IN, 1999.
- (3) Stahly, G. P. Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals. *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 1007–1026.
- (4) Brog, J. P.; Chanez, C. L.; Crochet, A.; Fromm, K. M. Polymorphism, what it is and how to identify it: a systematic review. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 16905–16931.
- (5) Mahmood, A.; Khan, I. U.; Longo, R. L.; Irfan, A.; Shahzad, S. A. Synthesis and structure of 1-benzyl-5-amino-1H-tetrazole in the solid state and in solution: Combining X-ray diffraction, <sup>1</sup>H NMR, FT-IR, and UV-Vis spectra and DFT calculations. *C. R. Chim.* **2015**, *18*, 422–429.
- (6) Llinàs, A.; Goodman, J. M. Polymorph control: past, present and future. *Drug Discovery Today* **2008**, *13*, 198–210.
- (7) Grothe, E.; Meekes, H.; Vlieg, E.; ter Horst, J. H.; de Gelder, R. Solvates, Salts, and Cocrystals: A Proposal for a Feasible Classification System. *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 3237–3243.
- (8) Aitipamula, S.; Banerjee, R.; Bansal, A. K.; Biradha, K.; Cheney, M. L.; Choudhury, A. R.; Desiraju, G. R.; Dikundwar, A. G.; Dubey, R.; Duggirala, N.; Ghogale, P. P.; Ghosh, S.; Goswami, P. K.; Goud, N. R.; Jetti, R. R. K. R.; Karpinski, P.; Kaushik, P.; Kumar, D.; Kumar, V.; Moulton, B.; Mukherjee, A.; Mukherjee, G.; Myerson, A. S.; Puri, V.; Ramanan, A.; Rajamannar, T.; Reddy, C. M.; Rodriguez-Hornedo, N.; Rogers, R. D.; Row, T. N. G.; Sanphui, P.; Shan, N.; Shete, G.; Singh, A.; Sun, C. C.; Swift, J. A.; Thaimattam, R.; Thakur, T. S.; Kumar Thaper, R.; Thomas, S. P.; Tothadi, S.; Vangala, V. R.; Variankaval, N.; Vishweshwar, P.; Weyna, D. R.; Zaworotko, M. J. Polymorphs, salts, and cocrystals: What's in a name? *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 2147–2152.
- (9) Yu, L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *48*, 27–42.
- (10) Healy, A. M.; Worku, Z. A.; Kumar, D.; Madi, A. M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2017**, *117*, 25–46.
- (11) Hörter, D.; Dressman, J. B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 75–87.
- (12) York, P. Solid-state properties of powders in the formulation and processing of solid dosage forms. *Int. J. Pharm.* **1983**, *14*, 1–28.
- (13) Nunn, T.; Williams, J. Formulation of medicines for children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2005**, *59*, 674–676.
- (14) International Conference on Harmonization. Guidance for Industry: Q11 Development and Manufacture of Drug Substances. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) November 2012, <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm261078.pdf>, (accessed March 2018).
- (15) Lipinski, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2000**, *44*, 235–249.
- (16) Erceg, M.; Vertzoni, M.; Ceric, H.; Dumic, M.; Cetina-Cizmek, B.; Reppas, C. In vitro vs. canine data for assessing early exposure of doxazosin base and its mesylate salt. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2012**, *80*, 402–409.
- (17) Paulekuhn, G. S.; Dressman, J. B.; Saal, C. Trends in active pharmaceutical ingredient salt selection based on analysis of the orange book database. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6665–6672.
- (18) Desiraju, G. R.; Nangia, A. Use of the Term “Crystal Engineering” in the Regulatory and Patent Literature of Pharmaceutical Solid Forms. Some Comments. *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 5585–5587.
- (19) Serajuddin, A. T. Salt formation to improve drug solubility. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2007**, *59*, 603–616.
- (20) Pindelska, E.; Sokal, A.; Kolodziejski, W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2017**, *117*, 111–146.
- (21) Nguyen Thi, Y.; Rademann, K.; Emmerling, F. Direct evidence of polyamorphism in paracetamol. *CrystEngComm* **2015**, *17*, 9029–9036.
- (22) Carstensen, J. T. *Advanced Pharmaceutical Solids*; CRC Press, 2000; Vol. 110, pp 1–11.
- (23) Brüning, J.; Schmidt, M. U. The determination of crystal structures of active pharmaceutical ingredients from X-ray powder diffraction data: a brief, practical introduction, with fexofenadine hydrochloride as example. *J. Pharm. Pharmacol.* **2015**, *67*, 773–781.
- (24) Griesser, U. J. In Polymorphism: In *The Pharmaceutical Industry*; Hilfiker, R., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006; pp 211–233.
- (25) Healy, A. M.; Worku, Z. A.; Kumar, D.; Madi, A. M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2017**, *117*, 25–46.
- (26) Bajpai, A.; Scott, H. S.; Pham, T.; Chen, K. J.; Space, B.; Lusi, M.; Perry, M. L.; Zaworotko, M. J. Towards an understanding of the propensity for crystalline hydrate formation by molecular compounds. *IUCrJ* **2016**, *3*, 430–439.
- (27) Campbell, S. F.; Davey, M. J.; Hardstone, J. D.; Lewis, B. N.; Palmer, M. J. 2,4-Diamino-6,7-dimethoxyquinazolines. 1. 2-[4-(1,4-Benzodioxan-2-ylcarbonyl)piperazin-1-yl] Derivatives as  $\alpha$ 1-Adrenoceptor Antagonists and Antihypertensive Agents. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 49.
- (28) Chernyshev, V. V.; Machon, D.; Fitch, A. N.; Zaitsev, S. A.; Yatsenko, A. V.; Shmakov, A. N.; Weber, H.-P. Protonation site and hydrogen bonding in anhydrous and hydrated crystalline forms of doxazosin mesylate from powder data. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **2003**, *59*, 787–793.
- (29) Sohn, Y.-T.; Lee, Y.-H. Polymorphism of Doxazosin Mesylate. *Arch. Pharmacol. Res.* **2005**, *28*, 730–735.
- (30) Grcman, M.; Vrečer, F.; Meden, A. Some physico-chemical properties of doxazosin mesylate polymorphic forms and its amorphous state. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2002**, *68*, 373–387.
- (31) Chung, M.; Vashi, V.; Puente, J.; Sweeney, M.; Meredith, P. Pharmacokinetics of doxazosin in a controlled-release gastrointestinal therapeutic system (GITS) formulation. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1999**, *48*, 678–687.
- (32) DrugBank, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00590>, (accessed March 2018).
- (33) DrugIforSy, <http://www.druginfosys.com/drug.aspx?drugcode=264&type=1>, (accessed August 2018).
- (34) Cardura (doxazosin mesylate) Product Monograph, [https://www.pfizer.ca/sites/g/files/g10050796/f/201710/CARDURA\\_PM\\_Eng\\_201486\\_4Apr2017.pdf](https://www.pfizer.ca/sites/g/files/g10050796/f/201710/CARDURA_PM_Eng_201486_4Apr2017.pdf), (accessed August 2018).
- (35) Fdez de Betoño, S.; Arranz García, A.; Francisco Arranz Valentin, J. F. UV-Spectrophotometry and square wave voltammetry at nafion-modified carbon-paste electrode for the determination of doxazosin in urine and formulations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1999**, *20*, 621–630.
- (36) Grafe, I.; Morsdorf, J. P. E.P. Patent No. 0,849,264A1, 1996.
- (37) Grafe, I.; Morsdorf, J. P. E.P. Patent No. 0,849,265A1, 1996.
- (38) Grafe, I.; Morsdorf, J. P. E.P. Patent No. 0,849,266A1, 1996.
- (39) Cannata, V. P. M.; Piani, S.; Carrara, C.; Saguatti, S. E.P. Patent No. 0,848,001A1, 1997.
- (40) Morsdorf, J. P.; Grafe, I. U.S. Patent No. 6,130,218A, 1997.
- (41) Morsdorf, J. P.; Grafe, I. U.S. Patent No. 6,133,269A, 1997.
- (42) Morsdorf, J. P.; Grafe, I. U.S. Patent No. 6,140,334A, 1997.
- (43) Klein, P.; Thyges, M.; Hix, D. U.S. Patent No. 6,500,830B1, 1998.
- (44) Aguilar, C. A.; Llado, J. B.; Miguel, M. C. O. E.P. Patent No. 1,162,202B1, 2000.
- (45) Giridhar, T.; Reddy, R. B.; Ramesh, C. U.S. Patent No. 6,399,775B1, 2000.
- (46) Aguilar, C. A.; Llado, J. B.; Miguel, M. C. O. U.S. Patent No. 6,525,195B1, 2000.

- (47) Giridhar, T.; Reddy, R. B.; Ramesh, U.S. Patent No. 2002,0,065,287A1, 2001.
- (48) Kankan, R. N.; Rao, D. R.; Gangrade, M. G.; Mudgal, S. S. U.S. Patent No. 8,383,627, 2008.
- (49) Liying, X.; Desen, S.; Shaosun, L. *Chines. J. Med.* **1995**, *5*, 266–270.
- (50) Pupe, C. G.; Do Carmo, F. A.; De Sousa, V. P.; Lopes, M.; Abraham-Vieira, B.; Ribeiro, A. J.; Veiga, F.; Rodrigues, C. R.; Padula, C.; Santi, P.; Cabral, L. M. Development of a Doxazosin and Finasteride Transdermal System for Combination Therapy of Benign Prostatic Hyperplasia. *J. Pharm. Sci.* **2013**, *102*, 4057–4064.
- (51) Preethi, G. B.; Banerjee, S.; Shivakumar, H. N.; Ravi Kumar, M. Formulation of fast-dissolving tablets of doxazosin mesylate drug by direct compression method. *Int. J. Appl. Pharm.* **2017**, *9*, 22–28.
- (52) Herbig, S. M.; Cardinal, J. R.; Korsmeyer, R. W.; Smith, K. L. Asymmetric-membrane tablet coatings for osmotic drug delivery. *J. Controlled Release* **1995**, *35*, 127–136.
- (53) Pavli, M.; Vrečer, F.; Baumgartner, S. Matrix tablets based on carrageenans with dual controlled release of doxazosin mesylate. *Int. J. Pharm.* **2010**, *400*, 15–23.
- (54) Cha, K.-H.; Tran, T.-H.; Kim, M.-S.; Kim, J.-S.; Park, H. J.; Park, J.; Cho, W.; Hwang, S.-J. pH-Independent Sustained Release Matrix Tablet Containing Doxazosin Mesylate: Effect of Citric Acid. *Arch. Pharmacol. Res.* **2010**, *33*, 2003–2009.
- (55) *CrysAlis Pro 1.7*; Oxford Diffraction Ltd.: Abingdon, U.K., 2006.
- (56) Sheldrick, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.* **2015**, *71*, 3–8.
- (57) Farrugia, L. J. WinGX Program Features. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 837–838.
- (58) Macrae, C. F.; Bruno, I. J.; Chisholm, J. A.; Edgington, P. R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Rodriguez-Monge, L.; Taylor, R.; van de Streek, J.; Wood, P. A. New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures. *J. Appl. Crystallogr.* **2008**, *41*, 466–470.
- (59) Farrugia, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.
- (60) Allen, F. H. The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **2002**, *58*, 380–388.
- (61) Brasil. Ministério da Saúde. Nota técnica no. 003/2013. Online: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/349757/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+01+de+2013+-+CEFAR-GTFAR-GGMED-Anvisa/a89c47fd-2558-4659-88ff-95b35a004895> (accessed on Aug 22, 2018).
- (62) Brasil. Ministério da Saúde. RDC no. 31 de agosto de 2010. Online: [http://www.labfar.com.br/labfar-cebio/legislacao/RDC\\_31\\_2010.pdf](http://www.labfar.com.br/labfar-cebio/legislacao/RDC_31_2010.pdf) (accessed on Aug 22, 2018).
- (63) United States Pharmacopeia National Formulary. *USP40 NF35*; U.S. Pharmacopeial Convention: Rockville, MD, 2017.
- (64) Evans, D. G.; Boeyens, J. C. A. Conformational analysis of ring pucker. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **1989**, *B45*, 581–590.
- (65) Bernstein, J.; Davis, R. E.; Shimoni, L.; Chang, N. Patterns in hydrogen bonding: functionality and graph set analysis in crystals. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1555–1573.
- (66) Craig, D. Q. M.; Reading, M. *Thermal analysis of pharmaceuticals*; CRC/Taylor & Francis: Boca Raton, FL, 2007.

# Doxazosin Free-Base Structure Determination and its Equilibrium Solubility Compared to Polymorphic Doxazosin Mesylate Forms A and H

Edeilson V. Gonzaga,<sup>†</sup> Sara S. Vieira,<sup>‡</sup> Jéssica L. J. Vilaca,<sup>‡</sup> Mayra Guerra,<sup>‡</sup> Marina G. Evangelista,<sup>‡</sup> Iara M. L. Rosa,<sup>‡</sup> Mariana M. Figueiredo,<sup>‡</sup> Olímpia M. M. S. Viana,<sup>†</sup> and Antonio C. Doriguetto<sup>\*,‡</sup>

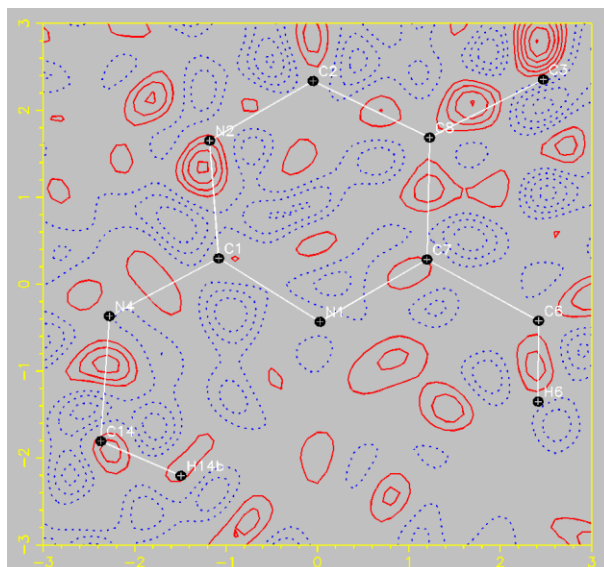
<sup>†</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences and <sup>‡</sup>Institute of Chemistry, Federal University of Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 701, Alfenas, Minas Gerais 37130-001, Brazil.

## Electronic supplementary information (ESI)

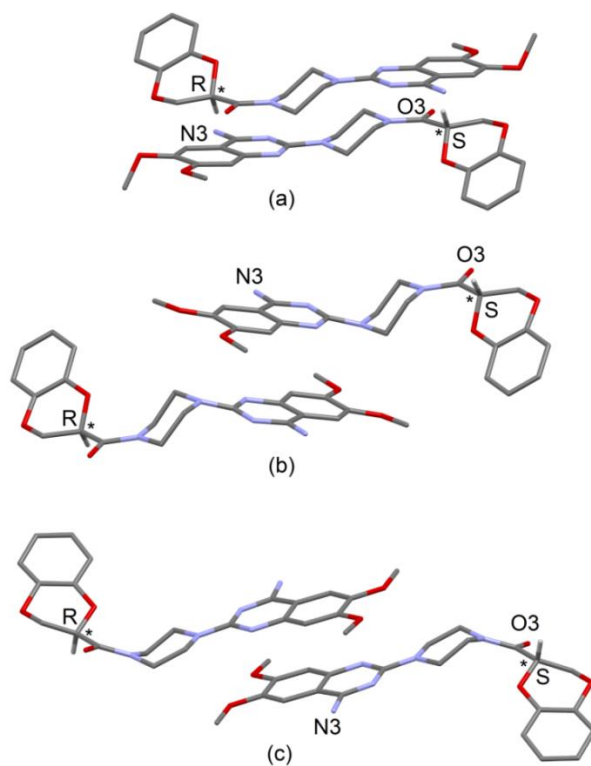
**Table S1.** List of relevant literature/patent reports with assignments of the corresponding polymorphs of the doxazosin Mesylate (hydrates not included) using the Grcman et al.'s notation<sup>30</sup>.

| Authors                          | Year      | The nine polymorph with Grcman et al.'s alphabetic notation <sup>30</sup> |   |   |   |   |                       |           |           |                | others <sup>†</sup> |    |
|----------------------------------|-----------|---|---|---|---|---|-----------------------|-----------|-----------|----------------|---------------------|----|
|                                  |           | A   | B | C | D | E | F                     | G         | H         | I              | 1-9                 | IV |
| Liyang et al. <sup>49</sup>      | 1995      | A   | B | C | - | - | -                     | -         | -         | -              | -                   | -  |
| Grafe et al. <sup>36-38</sup>    | 1996/1997 | <b>III</b>  | - | - | - | - | -                     | <b>I*</b> | <b>II</b> | -              | -                   | -  |
| Cannata et al. <sup>39</sup>     | 1997      | -   | - | - | - | - | <b>CF<sup>#</sup></b> | -         | -         | -              | -                   | -  |
| Klein et al. <sup>43</sup>       | 1998      | A   | - | - | D | - | -                     | -         | -         | -              | -                   | -  |
| Giridhar et al. <sup>45,47</sup> | 2000/2001 | A   | - | - | D | - | -                     | -         | -         | -              | -                   | -  |
| Grcman et al. <sup>30</sup>      | 2002      | A   | - | - | D | E | F                     | G         | H         | I <sup>±</sup> | -                   | -  |
| Chernyshev et al. <sup>28</sup>  | 2003      | A   | - | - | - | - | -                     | -         | -         | -              | -                   | -  |
| Sohn et al. <sup>29</sup>        | 2005      | -   | - | - | - | - | -                     | -         | -         | -              | 1-9                 | -  |
| Kankan et al. <sup>48</sup>      | 2008      | -   | - | - | - | - | -                     | -         | -         | -              | -                   | IV |

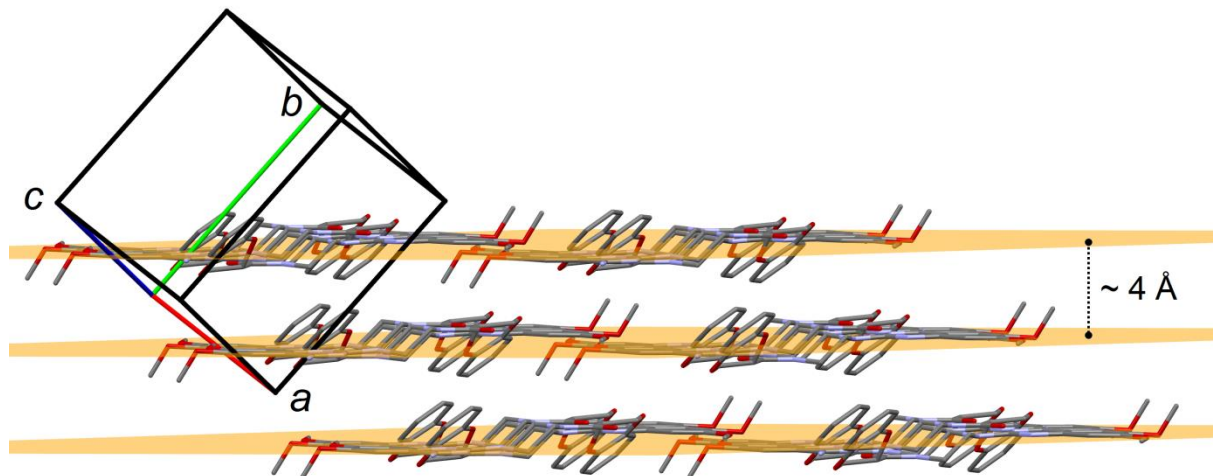
\* numerical; <sup>±</sup> alphabetical; <sup>#</sup> CF = crystalline form; <sup>†</sup> claimed after the Grcman et al.'s nomenclature harmonization.



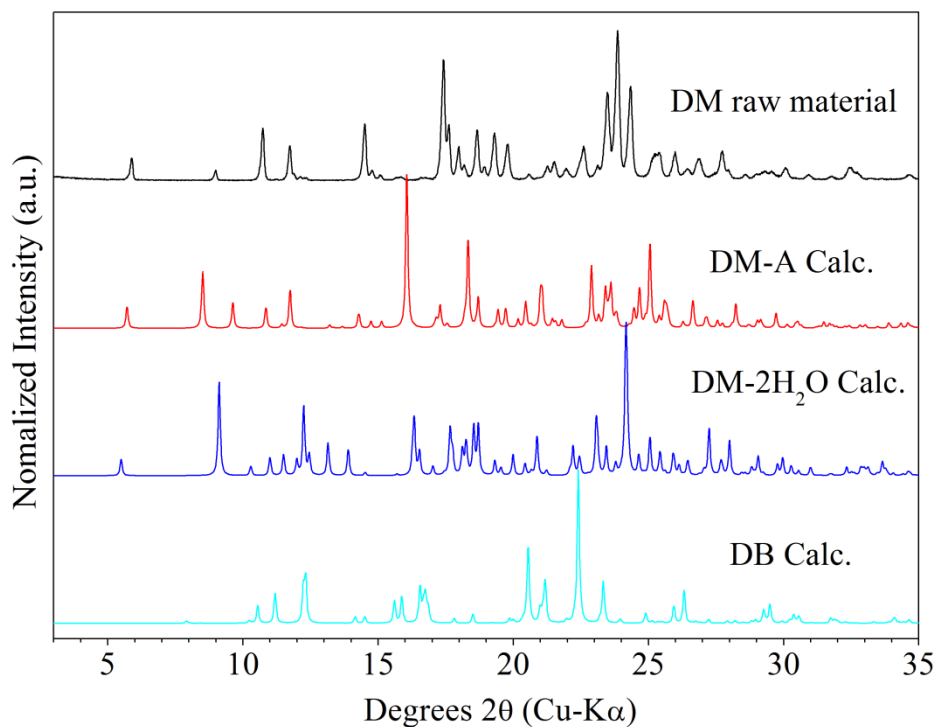
**Figure S1.** Residual density maps through the quinazoline ring obtained by difference Fourier synthesis showing that the N1 atom is deprotonated in the doxazosin free-base (DB). Red and blue lines show positive and negative contours levels, respectively. Contour levels correspond to  $0.1 \text{ e} \cdot \text{Å}^{-3}$  intervals.



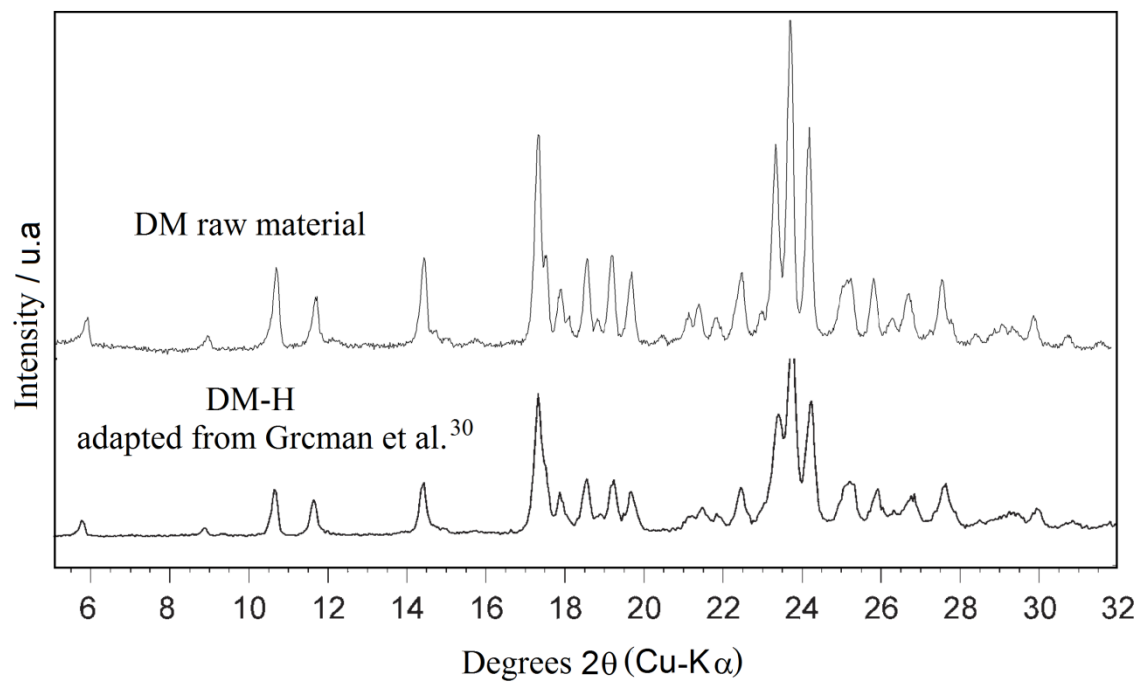
**Figure S2.** Views of the R and S enantiomers of the DB (a),  $\text{DM} \cdot 2\text{H}_2\text{O}^{28}$  (b), and  $\text{DM-A}^{28}$  (c), related by the inversion symmetry of their respective spaces groups. H atoms were omitted for sake of clarity.



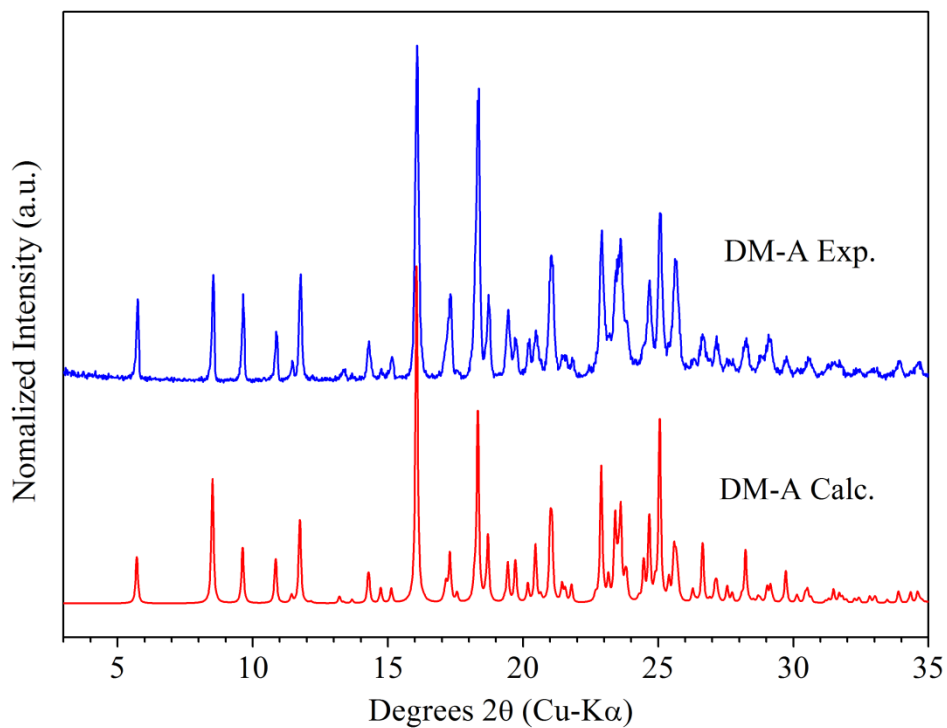
**Figure S3.** The overall packing of the DB showing the stacking of the layer depicted in **Figs. 4** and **5** viewed normal to (101). The interlayer separation is given. H atoms were omitted for the sake of clarity.



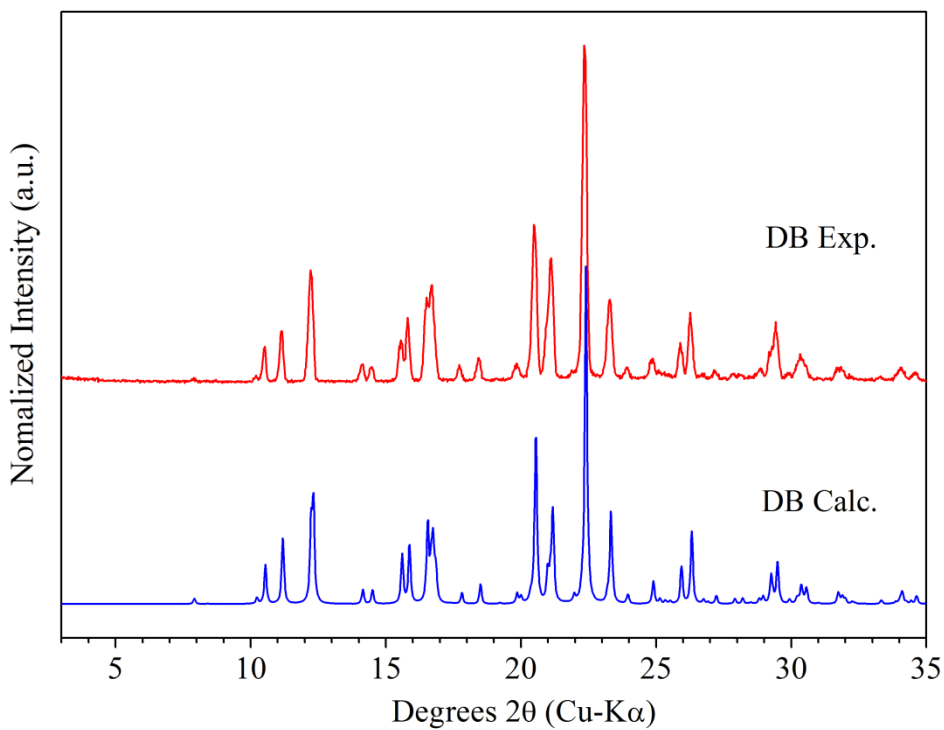
**Figure S4.** Experimental PXRD pattern of the DM raw material compared to the calculated patterns for DM-A (CSD CIF file ULIYET)<sup>28</sup>, DM.2H<sub>2</sub>O (CSD CIF file ULIYIX)<sup>28</sup> and DB (determined here).



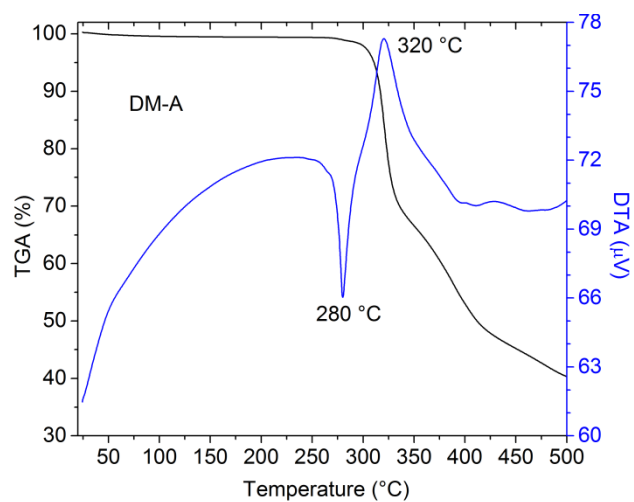
**Figure S5.** Experimental PXRD pattern of the DM raw material studied here compared to the previously reported experimental PXRD pattern of DM-H (adapted from Grzman et al.)<sup>30</sup>.



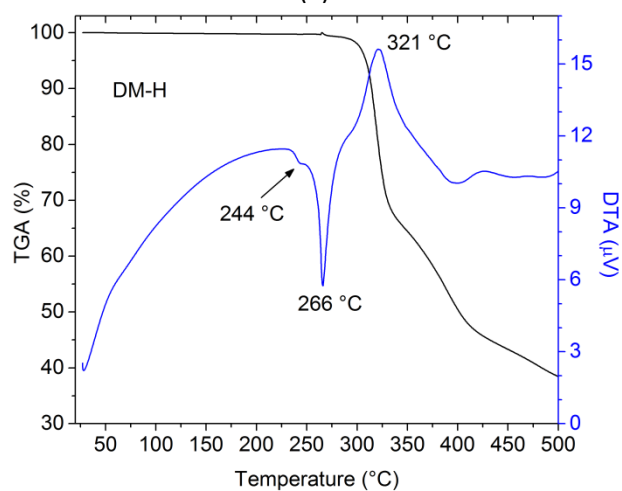
**Figure S6.** Experimental (*bulk material*) and calculated (CSD CIF file ULIYET)<sup>28</sup> PXRd patterns of DM-A.



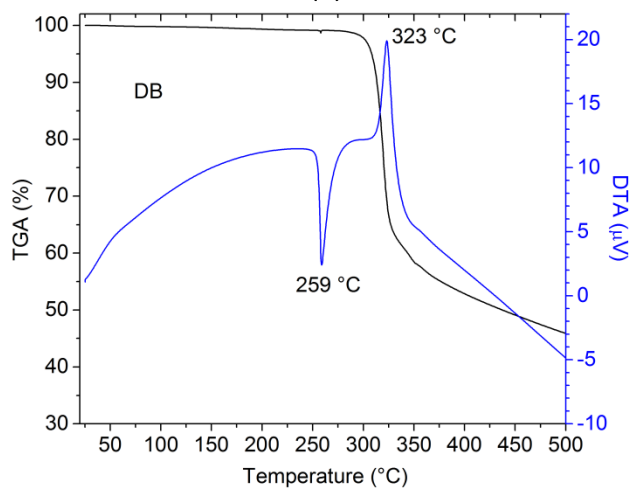
**Figure S7.** Experimental (*bulk material*) and calculated (structure determined here) PXRd patterns of DB.



(a)

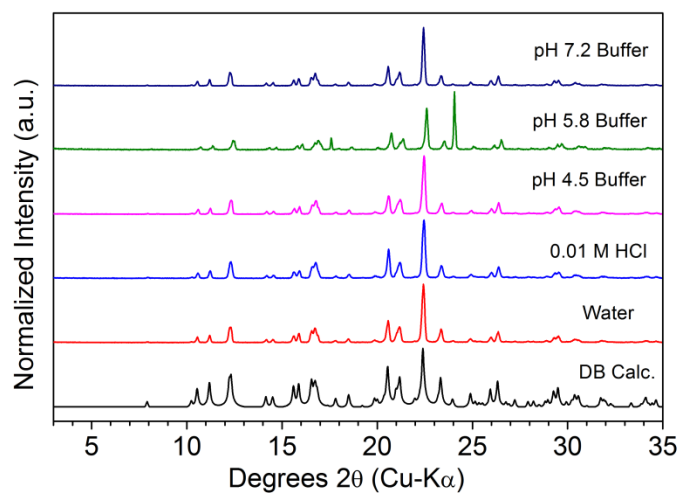


(b)

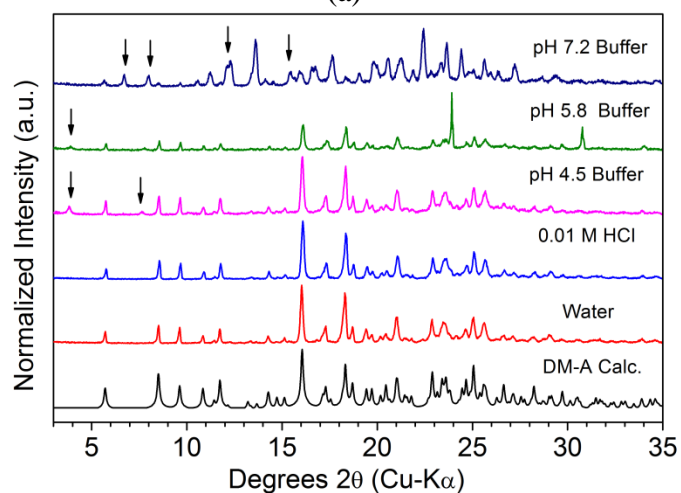


(c)

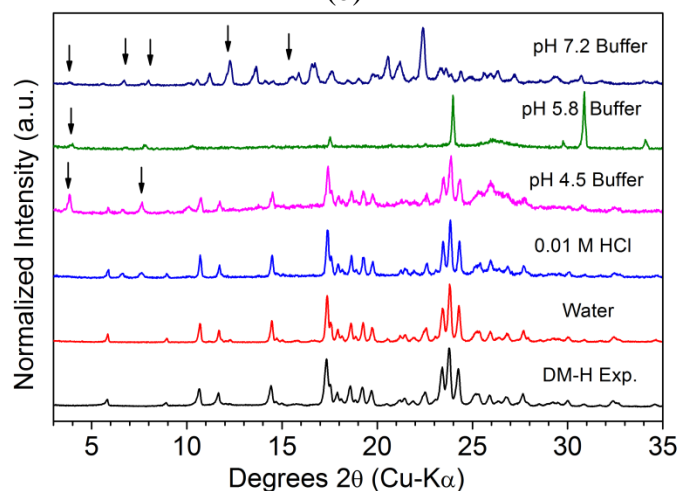
**Figure S8.** TGA/DTA curves of DM-A (a), DM-H (b) and DB (c) samples in the range of 30 to 500 °C, at a heating rate of 10 °C min<sup>-1</sup> under N<sub>2</sub> flow (50 mL min<sup>-1</sup>).



(a)



(b)



(c)

**Figure S9.** Experimental PXRD patterns of the residual solid materials in equilibrium with the solution prepared from DB (a), DM-A (b) and DM-H (c) in the media used to probe their equilibria solubility. The calculated PXRD patterns of DB (a) and DM-A<sup>28</sup> (b) are also included.