

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
CAMPUS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS MOLECULARES

ANA CAROLINA MENDES LOURENÇO

ESTUDO DA TRANSFERÊNCIA DE CARGA DO MALEATO DE  
ENALAPRIL NO ESTADO SÓLIDO POR DINÂMICA MOLECULAR

ANÁPOLIS – GO  
2022

ANA CAROLINA MENDES LOURENÇO

ESTUDO DA TRANSFERÊNCIA DE CARGA DO MALEATO DE  
ENALAPRIL NO ESTADO SÓLIDO POR DINÂMICA MOLECULAR

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares, da Universidade Estadual de Goiás, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Área de concentração: Físico -Química

Orientador: Prof.º Dr. Hamilton Barbosa Napolitano

Coorientadora: Prof.ª Dra. Lauriane Gomes Santin

ANÁPOLIS – GO  
2022

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MM538 e Mendes Lourenço, Ana Carolina  
Estudo da transferência de carga do maleato de enalapril no estado sólido por dinâmica molecular / Ana Carolina Mendes Lourenço; orientador Hamilton Barbosa Napolitano; co-orientador Lauriane Gomes Santin. -- Anápolis, 2022.  
69 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Mestrado Acadêmico em Ciências Moleculares) -- Câmpus Central - Sede: Anápolis - CET, Universidade Estadual de Goiás, 2022.

1. maleato de enalapril. 2. superfície de Hirshfeld. 3. análise estrutural. 4. transferência de carga. . I. Barbosa Napolitano, Hamilton, orient. II. Gomes Santin, Lauriane, co-orient. III. Título.



ESTADO DE GOIÁS  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS - UEG  
COORDENAÇÃO STRICTO SENSU CIÊNCIAS MOLECULARES

## ESTUDO DA TRANSFERÊNCIA DE CARGA DO MALEATO DE ENALAPRIL NO ESTADO SÓLIDO POR DINÂMICA MOLECULAR

ANA CAROLINA MENDES LOURENÇO

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências Moleculares do Câmpus Central - Sede: Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo da Universidade Estadual de Goiás, apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Aprovada em 16/12/2022 por:

Prof. Dr. Hamilton Barbosa Napolitano

Prof. Dr. Lauriane Gomes Santin

Prof. Dr. William Borges Fernandes



Documento assinado eletronicamente por Lauriane Gomes Santin Oliveira, Usuário Externo, em 19/10/2023, às 12:28, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por William Borges Fernandes, Usuário Externo, em 19/10/2023, às 12:33, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por HAMILTON BARBOSA NAPOLITANO, Docente de Ensino Superior, em 25/10/2023, às 14:56, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site [http://sei.go.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=1](http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1) informando o código verificador 52917997 e o código CRC 5FB6A22A.

COORDENAÇÃO STRICTO SENSU CIÊNCIAS MOLECULARES  
RODOVIA BR 153 S/Nº, QUADRA ÁREA KM 99 - Bairro ZONA RURAL - ANAPOLIS - GO - CEP 75132-903 - (62)8408-7538



Referência: Processo nº 2023.00020020095



SEI 52917997

## RESUMO

O maleato de enalapril é um pró-fármaco anti-hipertensivo de éster etílico que apresenta duas formas cristalinas (forma I e forma II). Uma rede de ligações de hidrogênios está presente em ambas as estruturas cristalinas e desempenha um papel importante no empacotamento dos dois polimorfos. O maleato de enalapril apresenta uma alta suscetibilidade a sofrer reações de degradação, quando exposto a condições de alta umidade, temperatura e alterações de pH. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do maleato na estabilidade estrutural do estado sólido do maleato de enalapril. O processo de transferência de carga e a mobilidade do próton ( $H^+$ ) entre as moléculas de enalapril e maleato foram demonstrados por meio de modelagem molecular e cálculos de dinâmica molecular. As análises mostraram que em ambas as estruturas cristalinas, as porções da molécula que exibiram uma maior densidade eletrônica e indicam a ocorrência das ligações de hidrogênios, coincidem com os grupos funcionais que são mais propensos a sofrerem reações químicas que causam a degradação do maleato de enalapril. Isto explica a razão pela qual as estruturas cristalinas do maleato de enalapril conferem mais estabilidade ao fármaco. Finalmente, as análises de modelagem supramolecular e os cálculos de CPMD foram aplicados para avaliar a estrutura eletrônica do maleato de enalapril e o processo de transferência de prótons. Estas análises demonstraram a transferência de carga do enalapril para o maleato, bem como a mobilidade do próton ( $H^+$ ) entre as duas moléculas no estado cristalino.

**Palavras-chave:** *maleato de enalapril, superfície de Hirshfeld, análise estrutural, transferência de carga.*

## ABSTRACT

Enalapril maleate is an antihypertensive ethyl ester pro-drug with two crystalline forms (form I and form II). A network of hydrogens bond is present in both crystal structures and plays an important participation in the packing of two polymorphs. Enalapril maleate presents high susceptibility to undergo degradation reactions, when exposed to conditions of high humidity, temperature, and pH changes. This work evaluates the effect of maleate on the structural stability of enalapril maleate solid state. The charge transfer process and the mobility of the proton ( $H^+$ ) between enalapril and maleate molecules was demonstrate using supramolecular modeling analyses and molecular dynamics calculations. The analyses showed that in both crystalline structures, the moieties of the molecule that exhibited a higher electronic density, and indicate the occurrence of the hydrogens bonds, coincide with the functional groups that are more likely to suffer chemical reactions and cause the degradation of the enalapril maleate, which explains why the crystalline structures of enalapril maleate confer more stability to the drug. Finally, the supramolecular modeling analyses and CPMD calculations, was applied to evaluate the electronic structure of enalapril maleate and the transfer proton process. These analyses showed the charge transfer from enalapril to maleate as well as the mobility of the proton ( $H^+$ ) between the two molecules in the crystalline state.

**Keywords:** *enalapril maleate, Hirshfeld surface, structural analysis, charge transfer.*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática de moléculas dispostas de forma ordenada em um arranjo cristalino em (a) e dispostas de forma aleatória em um sólido amorfo em (b).....	14
<b>Figura 2.</b> Representação de cela unitária e da rede cristalina.....	17
<b>Figura 3.</b> Representação das redes de Bravais.....	18
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática de um experimento de difração de raios-X.....	20
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática para a Lei de Bragg.....	21
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática de um modelo de mapa de densidade eletrônica.....	23
<b>Figura 7.</b> Esquema representativo da ação farmacológica do enalapril.....	30
<b>Figura 8.</b> Esquema representativo dos mecanismos de degradação do maleato de enalapril.....	33
<b>Figura 9.</b> Elipsoides térmicos dos átomos não-H com nível de probabilidade de 50% da forma I do ME.....	40
<b>Figura 10.</b> Ligações de hidrogênio na (a) forms I a na (b) forms II. Análise de HS para a (c) forma I e (d) forma II.....	42
<b>Figura 11.</b> (a) Interações da forma I (b) Análise de shape index da forma I – as regiões fortemente destacadas em tom alaranjado sobre o anel aromático do enalapril assim como sobre o carbono C21 do maleato, correspondem às interações C-H $\cdots\pi$ e C-H $\cdots$ C respectivamente.....	44
<b>Figura 12.</b> Participação das interações O $\cdots$ H e C $\cdots$ H no empacotamento cristalino da forma I do maleato de enalparil.....	45
<b>Figura 13.</b> Variações na posição do átomo de hidrogênio para a realização dos cálculos teóricos. Observamos em (a) o hidrogênio do maleato, que ocupa uma posição central, voltado em direção a carbonila e em (b) o hidrogênio da carboxila descentralizado, posicionado na extremidade da molécula.....	47

<b>Figura 14.</b> Localização e numeração dos pontos críticos e dos caminhos de ligação nos sistemas avaliados.....	48
<b>Figura 15.</b> Orbitais de fronteira para as conformações (a) MEcs, b) MEcg, c) MEds e d) MEdg.....	52
<b>Figura 16.</b> ESP para as conformações (a) MEcs, (b) MEcg, (c) MEds e (d) MEdg.....	54
<b>Figura 17.</b> (a) Sistema MEc, com o hidrogênio do maleato centralizado e voltado em direção a carbonila. (b) Sistema MEd, com hidrogênio do maleato em posição descentralizada.....	55
<b>Figura 18.</b> FDR centrado no átomo O7 com os hidrogênios do sistema (a) MEc e do sistema (b) MEd a 300K.....	56
<b>Figura 19.</b> TMR para o átomo O7 com os hidrogênios do sistema (a) MEc e do sistema (b) MEd a 300K.....	57
<b>Figura 20.</b> Evolução das distâncias entre os átomos N1-H e O7-H do (a) sistema MEc e do (b) sistema MEd a 300 K.....	58
<b>Figura 21.</b> RDF centrado no átomo O8 com hidrogênios do sistema (a) MEc e (b) MEd a 300K.....	59
<b>Figura 22.</b> TMR para o átomo O8 com os hidrogênios do sistema (a) MEc e do sistema (b) MEd a 300K.....	59

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Os sete sistemas cristalinos e suas respectivas métricas para cada vetor que constitui a cela unitária.....	16
<b>Tabela 2.</b> Formação da impureza DKP antes do período de incubação para estudos de estabilidade (T0) e após 1 mês de incubação das formulações contendo as formas I e II do maleato de enalapril e o agente estabilizador bicarbonato de sódio.....	34
<b>Tabela 3.</b> Dados cristalográficos das formas I e II do ME.....	41
<b>Tabela 4.</b> Distâncias e ângulos das interações da forma I do maleato de enalapril.....	43
<b>Tabela 5.</b> Distâncias e ângulos das ligações de hidrogênio, Densidade eletrônica ( $\rho(r)$ ), Densidade de energia ( $H[\rho(r)]$ ), Laplaciano da densidade eletrônica ( $\nabla^2[\rho(r)]$ ), Densidade de energia potencial ( $V[\rho(r)]$ ) e densidade eletrônica cinética ( $G[\rho(r)]$ ) referentes aos valores de BCPs ao nível de teoria M062x/6-311++G** .....	49

## LISTA DE ABREVIACOES

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BCP – *Bond Critical Point*

CCDC – *Cambridge Crystallographic Database Centre*

CIF – *Crystallographic Information File*

CSD – *Cambridge Structural Database*

CP – *Critical Point*

DMCP – Dinâmica Molecular de Carr-Paririnello

DKP - Dicitopiperazina

DFT – *Density Functional Theory*

ECA – Enzima Conversora de Angiotensina

ESP – *Electrostatic Potential Surface*

ET – Enalaprilato

HS – *Hirshfeld Surface*

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital*

ICDD – *International Centre for Diffraction Data*

LUMO – *Lowest Occupied Molecular Orbital*

ME – Maleato de enalapril

MRT – *Mean Residence Time*

RDF – *Radial Function Distribution*

QTAIM – *Quantum Theory of Atoms in Molecules*

TF – Transformada de Fourier

UEG – Universidade Estadual de Goiás

vdW - *van der Waals*

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. O Estado Sólido Cristalino .....	14
3. TÓPICOS DA METODOLOGIA CRISTALOGRAFICA.....	16
3.1 Cella Unitária e Simetria .....	16
3.2 Difração de Raios X .....	19
3.3 Transformada de Fourier .....	21
4. O ESTADO SÓLIDO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS.....	27
4.1 Polimorfismo de Fármacos .....	28
4.2 A Utilização de Sais, Contraíons, Hidratos ou Solvatos .....	29
5. MALEATO DE ENALAPRIL.....	30
5.1 Estruturas Cristalinas do Maleato de Enalapril .....	31
5.2 Estabilidade do Maleato de Enalapril no Estado Sólido.....	32
6. ANÁLISE COMPUTACIONAL .....	35
6.2 Análise da Superfície de <i>Hirshfeld</i> .....	35
6.3 Modelagem Supramolecular .....	36
6.4 Dinâmica Molecular .....	38
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
7.1 Descrição do estado sólido .....	40
7.2 Análise de Modelagem Supramolecular .....	45
7.3 Cálculos de Dinâmica Molecular .....	55
9. REFERÊNCIAS .....	61
10. ANEXO .....	69

## 1. INTRODUÇÃO

A grande maioria dos fármacos comercializados atualmente se encontram no estado sólido cristalino, podendo se manifestar na forma de solvatos, hidratos ou co-cristais (AULTON; TAYLOR, 2013). Neste sentido, a metodologia cristalográfica possibilita a obtenção de informações relevantes relacionadas às características intrínsecas da substância no estado sólido. Isto se deve ao fato dos experimentos cristalográficos fornecerem dados importantes a respeito das moléculas e como elas se organizam energeticamente ao interagirem umas com as outras. Estes dados se dão através de informações como a posição dos átomos, a densidade eletrônica, a força das interações e ligações químicas, bem como seus ângulos, distâncias e comprimentos (BERNSTEIN *et al.*, 2010).

A partir destas informações é possível, por exemplo, inferir quais são as regiões da molécula que apresentam maior reatividade química, delinear o mapa topológico supramolecular da estrutura e avaliar outros dados a respeito da estrutura cristalina (SPACKMAN *et al.*, 2021). Deste modo, obtém-se bases fundamentadas que explicam de forma coerente o comportamento físico-químico de um determinado fármaco no estado cristalino. Assim, é possível o desenvolvimento racional de um medicamento que apresenta formulação compatível com as características físico-químicas do insumo farmacêutico aliada a um processo de fabricação robusto, que assegura a manutenção dos requisitos da qualidade do produto, como por exemplo um bom desempenho em estudos de estabilidade, taxas de dissolução adequadas e teor dentro dos limites preconizados (BERNSTEIN, 2020).

Cristais de compostos farmacêuticos podem exibir polimorfismo, que é definido como a habilidade de uma substância existir no estado sólido com duas ou mais fases cristalinas que exibem diferentes empacotamentos ou conformações de moléculas na rede cristalina. Devido à estas diferentes conformações e interações intermoleculares, os polimorfos de um fármaco podem apresentar grande distinção em propriedades físico-químicas (BERNSTEIN, 2020).

O enalapril é um pró-fármaco éster etílico amplamente utilizado para tratar insuficiência cardíaca e doenças renais crônicas assim como reduzir a pressão arterial em pacientes hipertensos, diminuindo a resistência vascular sistêmica sem comprometimento dos reflexos cardiovasculares (SMEETS *et al.*, 2020). Entretanto, existe uma lacuna significativa de informação sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica (GOMEZ *et al.*, 1985) a qual demanda estudos abrangentes sobre a transferência de carga entre o maleato e o enalapril (ME). Após a administração oral, aproximadamente 60 a 70% do enalapril é absorvido antes de sofrer hidrólise através de carboxilesterases hepáticas para formar o enalaprilato (ET) – um potente inibidor da enzima

conversora de angiotensina (ECA). O pico sérico das concentrações de enalaprilato é atingido 4 horas após a administração oral com uma meia-vida terminal prolongada (>30 horas) devido à forte ligação do enalaprilato à enzima conversora da angiotensina (SMEETS *et al.*, 2020).

No estado sólido cristalino, o maleato de enalapril exibe duas fases cristalinas distintas (forma I e forma II). A forma I, a primeira a ser depositada no banco de dados cristalográfico *Cambridge Structural Database* (CSD) mantido pelo *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC), foi elucidada por Précigoux e colaboradores em 1985 utilizando a metodologia de difração de raios-x de monocristal e publicada em 1986 (PRÉCIGOUX *et al.*, 1986). Já a forma II foi elucidada e teve seu depósito estrutural realizado em 2003 por Kiang e colaboradores, onde foi empregada a técnica de difração de raios-x de policristais para obtenção das informações cristalográficas da estrutura. Este último trabalho apresentou ainda um estudo teórico comparativo entre as formas I e II do maleato de enalapril a respeito de suas respectivas energias de rede cristalina. Como resultado, os autores concluíram que a forma II é ligeiramente mais estável que a forma I ao apresentar uma energia de empacotamento cristalino 0,6 kcal/mol maior (KIANG *et al.*, 2003a). Estes dados ainda corroboraram com o estudo comparativo entre os polimorfos do maleato de enalapril publicado por Ip e colaboradores em 1986 que, através de dados experimentais calorimétricos, demonstraram resultados semelhantes aos dados teóricos obtidos por Kiang em 2003 (IP *et al.*, 1986).

Apesar de exibir uma alta solubilidade e boa estabilidade físico-química em condições normais de temperatura e pressão, as duas formas polimórficas do maleato de enalapril apresentam grande susceptibilidade em sofrer reações de degradação através de mecanismos de ataque eletrofílico seguido de ciclização e hidrólise quando expostas a condições de elevada umidade, temperatura e mudanças de pH. Neste sentido, sabe-se que a ciclização e hidrólise deste fármaco, ocorrem no grupamento etil-éster, levando à formação da impureza enalaprilato, que é um ácido livre, ou à ciclização em um derivado da dicetopiperazina. Ambos os produtos de degradação são considerados impurezas (BOUT; VROMANS, 2022a; IP; BRENNER, 1987a; SU *et al.*, 2021a).

É conhecido que as ligações de hidrogênio desempenham um papel importante na rede cristalina de ambos os polimorfos do maleato de enalapril e que a interação entre a molécula de enalapril e maleato ocorre através do mecanismo de transferência de carga. Neste sentido, o melhor entendimento deste mecanismo possibilita aos formuladores o desenvolvimento de tecnologias farmacêuticas que visam condicionar a manutenção desta transferência e assim assegura a estabilidade da estrutura cristalina do fármaco durante o processo de fabricação e no medicamento.

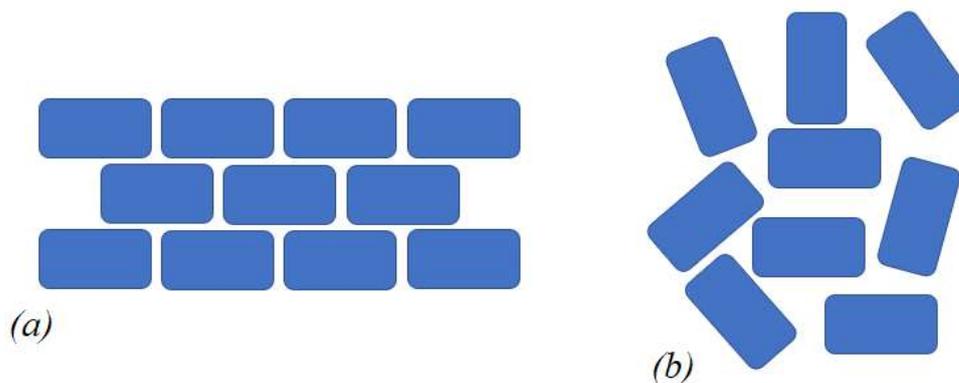
Tendo em vista as informações apresentadas, este trabalho busca avaliar o efeito do maleato na estabilidade estrutural do ME no estado sólido. O processo de transferência de carga e a mobilidade do próton ( $H^+$ ) entre as moléculas de enalapril e maleato foram demonstrados por meio de modelagem molecular e cálculos de dinâmica molecular.

## 2. O Estado Sólido Cristalino

A cristalografia a partir da difração de raios X é uma metodologia utilizada para o estudo da estrutura molecular e cristalina de diversos compostos químicos. Através de fundamentos como a simetria, o fenômeno da difração e a Transformada de Fourier (TF), é possível a construção de um modelo químico com informações sobre a disposição espacial dos átomos em uma molécula e/ou em uma estrutura cristalina. Desta forma, a cristalografia pode ser aplicada de forma interdisciplinar em várias áreas da ciência, como a química, física, biologia molecular, farmacologia, tecnologia farmacêutica, mineralogia e engenharia de materiais (WATKIN, 2010; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

O estado sólido da matéria pode ser classificado em duas categorias: o estado sólido cristalino, que se trata do estado de menor energia e onde a posição dos átomos e moléculas no cristal apresentam um padrão de distribuição tridimensional; e o estado sólido amorfo, em que os átomos e moléculas estão dispostos de maneira aleatória, desta forma não existe uma periodicidade para o arranjo molecular, conforme esquematizado na Figura 1.1.1 (ATKINS *et al.*, 2018; BORCHARDT-OTT, 2012).

**Figura 1.** Representação esquemática de moléculas dispostas de forma ordenada em um arranjo cristalino em (a) e dispostas de forma aleatória em um sólido amorfo em (b)



O arranjo interno dos átomos e moléculas de um cristal apresenta um alto grau de ordenamento, de forma que permite um extenso alcance tridimensional a partir de um determinado ponto, sendo idêntico em qualquer outro ponto equivalente (BERNSTEIN *et al.*, 2010). Esta maneira de se organizar energeticamente possibilita, através da metodologia cristalográfica, a elucidação de uma determinada estrutura molecular bem como das interações atômicas envolvidas no arranjo estrutural de uma substância, incluindo dados como ângulos, comprimentos das ligações e distância interatômicas (GIACOVAZZO *et al.*, 2011).

Além disso, é possível ainda compreender o arranjo supramolecular das moléculas bem como as interações intermoleculares envolvidas no empacotamento cristalino. Essas informações auxiliam na compreensão de diversas propriedades físico-químicas e biológicas dos compostos no estado sólido cristalino, como por exemplo a estabilidade e reatividade química, a solubilidade, atividade farmacológica ou toxicológica, comportamento térmico, dentre outras características que possuem inúmeras aplicações nas mais variadas áreas do conhecimento (BERNSTEIN, 2020; BERNSTEIN *et al.*, 2010).

### 3. TÓPICOS DA METODOLOGIA CRISTALOGRÁFICA

#### 3.1 Cella Unitária e Simetria

A cela unitária é a menor unidade volumétrica que se repete em um cristal, portanto carrega todas as informações estruturais do estado sólido cristalino. A métrica da cela unitária é constituída pelos seguintes parâmetros: **a**, **b** e **c**, que são vetores unitários linearmente independentes não coplanares; e  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , que são os ângulos formados entre os vetores da cela unitária:  $\alpha$  - entre **b** e **c**;  $\beta$  - entre **a** e **c**; e  $\gamma$  - entre **a** e **b** (BERNSTEIN *et al.*, 2010; STOUT *et al.*, 1990). Os valores que estes parâmetros podem assumir e combinarem entre si permite a existência de apenas sete sistemas cristalinos em que a cela unitária pode se enquadrar, os quais são mostrados na Tabela 2.1.1 (BLAKE *et al.*, 2009; FERNANDES *et al.*, 2010).

**Tabela 1.** Os sete sistemas cristalinos e suas respectivas métricas para cada vetor que constitui a cela unitária.

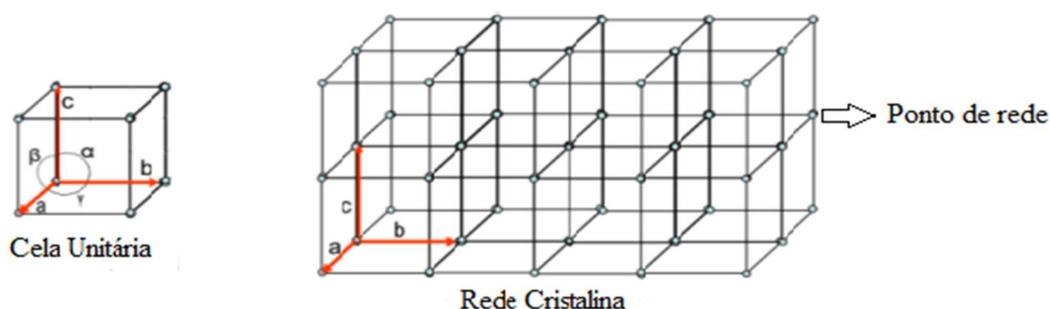
Sistema cristalino	Métrica dos vetores
Triclínico	$a \neq b \neq c ; \alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c ; \alpha = \gamma = 90^\circ, \beta \neq 90^\circ$
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c ; \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Tetragonal	$a = b \neq c ; \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Trigonal ou Romboédrico	$a = b \neq c ; \alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$
Hexagonal	$a = b \neq c ; \alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$
Cúbico	$a = b = c ; \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$

A simetria translacional é a repetição tridimensional e periódica da cela unitária no cristal por meio de eixos de translação. Considerando que a simetria translacional é uma característica fundamental no estado sólido cristalino, um cristal pode ser definido como a repetição tridimensional por translação da cela unitária (STOUT *et al.*, 1990). Para a metodologia cristalográfica através da difração de raios X, esta é uma propriedade fundamental do estado cristalino, pois possibilita que este funcione como uma rede de difração dos raios X. Assim, através das operações matemáticas de simetria, é possível caracterizar um monocristal a partir de uma unidade fundamental (BLAKE *et al.*, 2009; STOUT *et al.*, 1990).

Sabendo que a cela unitária é a menor unidade volumétrica que se repete em uma estrutura cristalina, pode-se assumir que o padrão de difração por ela apresentado é equivalente ao padrão de difração do cristal como um todo. Portanto, a cela unitária guarda toda a informação estrutural de uma forma cristalina, permitindo a análise da “parte pelo todo” (BERNSTEIN *et al.*, 2010; GIACOVAZZO *et al.*, 2011).

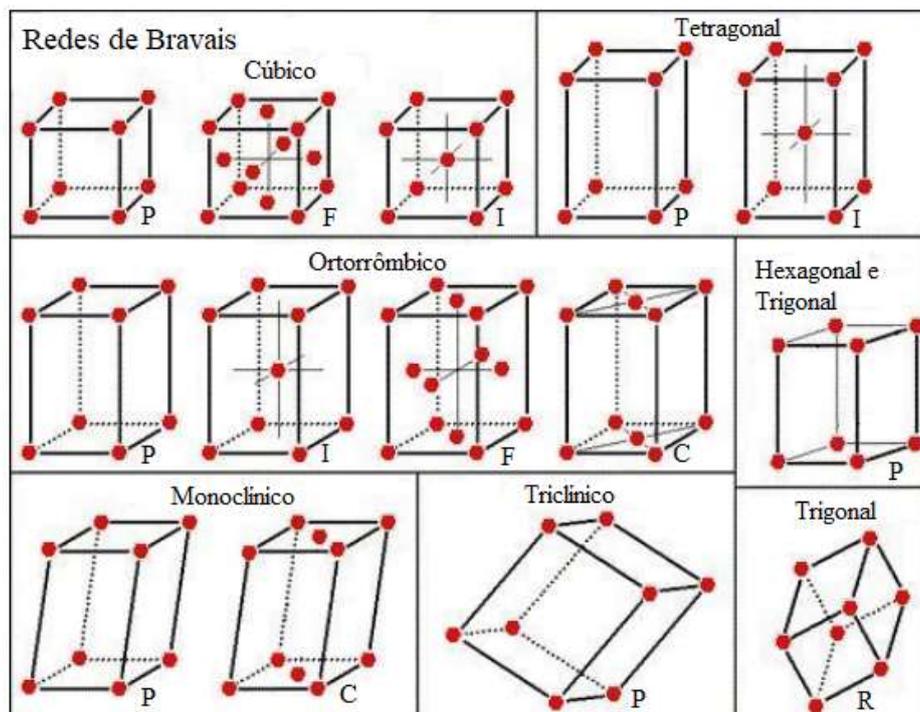
Decorrente da simetria translacional, tem-se a rede ou retículo cristalino, que constitui o modelo representativo de um cristal, conforme representado na Figura 2.1.1 (BERNSTEIN *et al.*, 2010). As redes cristalinas são formadas por um conjunto de pontos, os quais podem ter diferentes posições na cela unitária. Quando estes pontos se localizam apenas nos vértices da cela, tem-se uma cela unitária denominada do tipo primitiva, cuja representação é dada pela letra P. Já quando o ponto é encontrado no centro, a cela unitária é chamada de cela de corpo centrado, representada pela letra I. Para pontos que se encontram nas faces da cela, tem-se as faces centradas, representada pela letra F. Quando estes estão centrados apenas na face A, B ou C, são representados pelas respectivas letras (GIACOVAZZO *et al.*, 2011).

**Figura 2.** Representação de cela unitária e da rede cristalina



O padrão de vizinhança das celas unitárias dado a partir de parâmetros topológicos e, as diferentes possíveis combinações das simetrias de rede primitiva com os tipos de centragem de cela, possibilitam a existência de apenas 14 resultados distintos, chamados 14 redes de Bravais. Estes 14 tipos de redes cristalinas, podem ser observados na Figura 2.1.2 (BLAKE *et al.*, 2009; GIACOVAZZO *et al.*, 2011)

**Figura 3.** Representação das redes de Bravais.



No interior da cela unitária, existe uma porção estrutural única que pode ser constituída de um fragmento de uma molécula, uma molécula ou um grupo de moléculas, denominada unidade assimétrica. A repetição periódica de uma unidade assimétrica em torno de um ponto na cela unitária é chamada simetria pontual, também conhecida como simetria de Laue. Portanto, a cela unitária e sua simetria pontual constituem os fundamentos cristalográficos que possibilitam a construção de um modelo esquemático tridimensional que elucidam uma estrutura cristalina (BERNSTEIN *et al.*, 2010; LADD; PALMER, 2013).

A simetria pontual é definida por operações matemáticas realizadas em torno de um ponto. Essas operações, conhecidas como operações de simetria, são classificadas em operações próprias e operações impróprias. As operações próprias estão relacionadas ao giro ou simplesmente rotações em uma ordem de  $360^\circ$ , onde a configuração inicial da molécula é mantida. Já as operações impróprias são uma combinação de uma rotação com uma imagem espelhar ou com um centro de inversão, desta forma ocorrem mudanças na quiralidade da molécula (GIACOVAZZO *et al.*, 2011). A combinação de todas as possíveis operações de simetria, próprias e impróprias, para uma determinada molécula levam à existência de 32 grupos pontuais (GIACOVAZZO *et al.*, 2011; LADD; PALMER, 2013).

Por fim, ao considerar a combinação das 14 redes de Bravais com os 32 grupos pontuais descritos anteriormente, originam-se 73 grupos espaciais simórficos. Considerando ainda os possíveis

deslizamentos, tem-se 157 grupos espaciais que, somados, totalizam 230 grupos espaciais nos quais toda a matéria cristalina pode ser classificada (GIACOVAZZO *et al.*, 2011). A representação de todos os 230 grupos espaciais pode ser encontrada na *International Tables of Crystallography* - Volume A.

### 3.2 Difração de Raios X

Conforme discutido em tópicos anteriores, a compreensão das posições dos átomos e moléculas, bem como seu arranjo estrutural em uma forma cristalina é fundamental para o entendimento das propriedades físico-químicas e biológicas de um composto. Para visualizar a matéria em nível atômico seria necessária uma tecnologia microscópica com resolução ótica no comprimento de onda entre 0,5 e 2,5 Å, que corresponde ao comprimento de onda das dimensões atômicas. Porém, tal tecnologia é incompatível com o comprimento de ondas visível ao olho humano, uma vez que a mesma se encontra entre 4000 e 7000 Å. Desta forma, mesmo que uma tecnologia de microscopia ótica com resolução atômica fosse desenvolvida, ainda assim, não seria possível enxergar, por exemplo, a distribuição dos átomos em um composto químico, já que o comprimento de onda a ser visualizado é incompatível com a visão humana (NAPOLITANO *et al.*, 2007).

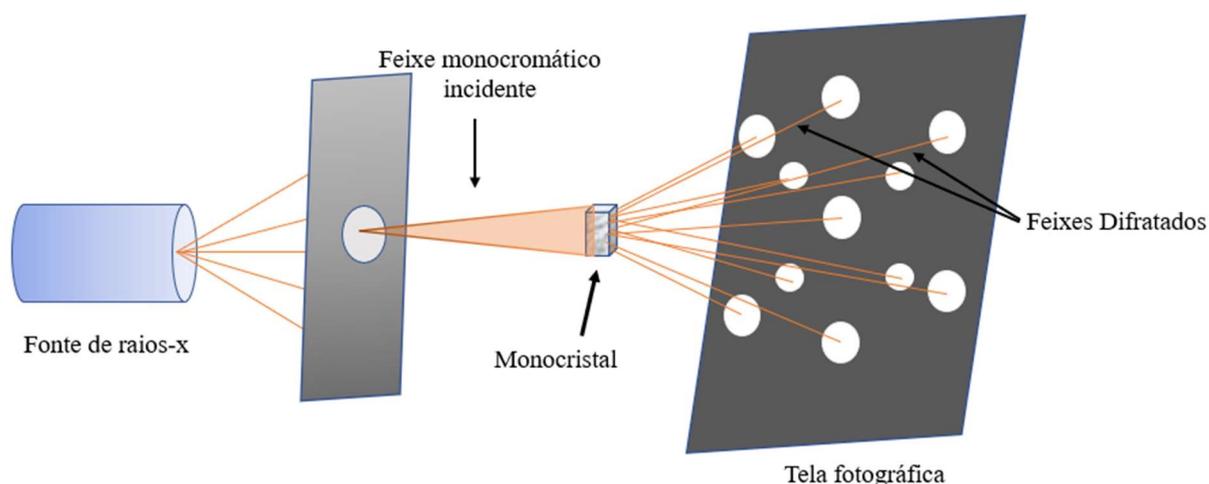
Para solucionar este problema, tem-se a metodologia de difração dos raios X que são radiações eletromagnéticas com comprimento de onda entre 0,1 e 100 Å, sendo, portanto, da mesma ordem das distâncias interatômicas. Experimentalmente, os raios X são obtidos através da colisão de um feixe de elétrons com um alvo metálico após ser acelerado por um campo eletromagnético, sendo uma radiação eletromagnética de alta energia. Para os experimentos cristalográficos, o feixe de raios-x obtido deve banhar a amostra por completo; ser monocromático, devido ao comportamento monocromador que os cristais apresentam; e colimado para a obtenção de um melhor contraste da imagem obtida experimentalmente (LADD; PALMER, 2013).

Quando a radiação de raio-X entra em contato com a matéria, são observados de três fenômenos: absorção, emissão e espalhamento. No contexto da cristalografia, destaca-se o fenômeno do espalhamento, que é tido como a radiação liberada pelas cargas energéticas que são aceleradas sob ação do campo elétrico da onda incidente. Quando este fenômeno é combinado com o fenômeno da interferência construtiva, origina-se um fenômeno secundário, chamado difração (NAPOLITANO *et al.*, 2007; STOUT *et al.*, 1990). Em uma estrutura cristalina, além da interferência construtiva, o fenômeno de difração ocorre também por conta do desvio entre a radiação emitida e o campo elétrico dos elétrons presentes na estrutura molecular do cristal. Estes, por sua vez, constituem espalhadores pontuais da onda eletromagnética.

Ressalta-se que, devido a simetria interna do cristal, obtém-se um padrão de difração ao incidir os raios-X sobre a matéria cristalina, comprovando o elevado grau de ordenamento tridimensional interno de um cristal, conforme pode ser observado no esquema representado na Figura 2.2.1. Desta forma, o padrão de difração dos raios-X obtido possibilita a elucidação do arranjo atômico e molecular dos sistemas cristalinos (BERNSTEIN *et al.*, 2010).

O monocristal em que o raio X é incidido e espalhado é denominado espaço direto, e o padrão de difração resultante forma o chamado espaço recíproco ao espaço direto. A localização atômica no espaço direto é definida por um vetor  $r = xa + yb + zc$ , enquanto no espaço recíproco, tem-se o vetor espalhamento  $S = ha^* + kb^* + lc^*$ <sup>1</sup> (BERNSTEIN *et al.*, 2010; STOUT *et al.*, 1990).

**Figura 4.** Representação esquemática de um experimento de difração de raios X.



No ano de 1923, William Lawrence Bragg demonstrou que a distribuição angular da radiação espalhada pode ser entendida através de uma lei simples, denominada Lei de Bragg (BRAGG, 1913; NAPOLITANO *et al.*, 2007; STOUT *et al.*, 1990).

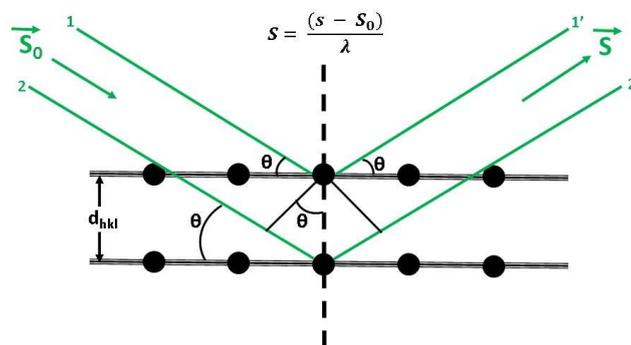
A Lei de Bragg apresenta as condições necessárias para que haja a difração em um cristal. A Figura 2.2.2 representa esquematicamente esta lei, onde observa-se que a diferença de caminho entre duas ondas incidentes precisa ser um múltiplo inteiro do comprimento de onda para que haja a interferência construtiva das ondas e conseqüentemente difração pelo cristal.

<sup>1</sup>  $h, k$  e  $l$  são os índices de Miller.

A lei de Bragg é representada pela equação 1.2.3.1 onde “d” é a distância entre dois planos de reflexão, “ $\theta$ ” é o ângulo de incidência e “ $\lambda$ ” é o comprimento de onda do feixe incidido (BRAGG; BRAGG, 1913; BRAGG, 1913).

$$2d_{hkl}\text{sen } \theta = n\lambda \quad (1.2.3.1)$$

**Figura 5.** Representação esquemática para a Lei de Bragg.



### 3.3 Transformada de Fourier

A Transformada de Fourier é uma transformada integral que expressa uma função em termos de funções de base senoidal, onde qualquer função pode ser expandida em uma série de harmônicos, seja por soma de senos e cossenos ou por exponenciais. Esta técnica constitui um dos fundamentos da técnica cristalográfica pois é a ferramenta matemática que relaciona a estrutura cristalina ao seu respectivo padrão de difração (ALMEIDA *et al.*, 2014; NAPOLITANO *et al.*, 2007; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

Tendo em vista que um cristal é composto por inúmeros moléculas arranjadas de forma ordenada e que, para os diferentes átomos que as compõem, existem diferentes números de elétrons, tem-se que cada átomo constitui um espalhador pontual. Portanto cada átomo terá um fator de espalhamento atômico  $f_j$  próprio. O espalhamento de um determinado átomo  $a_j$  em relação a origem da cela unitária é dado pela Equação 2.3.1:

$$f_j = f_j \cdot e^{2\pi r_j \cdot s} \quad (2.3.1)$$

Cada espalhador pontual age como centros espalhadores e a contribuição somática desses centros espalhadores pode ser entendida como fator de estrutura  $F(\mathbf{h})$ , obtida pela Equação 2.3.2. O

fator de estrutura ocorre devido a contribuição de cada átomo que espalha radiação em todas as direções juntamente com suas fases associadas, portanto, nada mais é do que um somatório dos espalhadores pontuais. Assim, após a execução do experimento, as intensidades coletadas representam a medida da amplitude de reflexão para um conjunto de planos  $hkl$ , correspondendo ao fator de estrutura, que por sua vez é uma síntese de Fourier (MASSA, 2004; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

$$F(\mathbf{h}) = \sum_{j=1}^N f_j e^{2\pi i \mathbf{h} \cdot \mathbf{r}} \quad (2.3.2)$$

A maneira que os elétrons podem estar dispostos em um certo volume espacial constitui a densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$ . Em cristalografia de raios X assume-se hipoteticamente que a “transformada de Fourier inversa” para o fator de estrutura representa a densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$  do arranjo cristalino, conforme Equação 2.3.3 (GIACOVAZZO *et al.*, 2011; LADD; PALMER, 2013; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum_{hkl} |F(hkl)| e^{-2\pi i [hx+ky+lz+\varphi(hkl)]} \quad (2.3.3)$$

### 3.4 Problema da Fase e os Métodos Diretos

A obtenção de um padrão de difração de uma determinada amostra cristalina, fornece as intensidades que podem ser transformadas em amplitudes, porém as fases  $\varphi(\mathbf{h})$  dos fatores de estrutura não são fornecidas em um experimento de difração de raios-x. As fases são mais importantes para a determinação da função densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$  do que as amplitudes, isto porque as posições atômicas são correspondentes aos pontos de máximo da densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$  e, portanto, o conhecimento da função  $\rho(\mathbf{r})$  para cada posição  $\mathbf{r}$  da cela unitária depende do conhecimento das fases  $\varphi(\mathbf{h})$ . Sendo assim, a elucidação de uma estrutura passa pela resolução do problema da fase, a qual, no caso de moléculas pequenas, é obtida por meio dos Métodos Diretos difração (ALMEIDA *et al.*, 2014; NAPOLITANO *et al.*, 2007; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

Através de relações matemáticas diretas a partir de um conjunto de intensidades coletadas experimentalmente, Jerome Karle e Herbert Aaron Hauptman desenvolveram os Métodos Diretos, que é amplamente aplicado à resolução do problema de fase dos fatores de estrutura  $F(\mathbf{h})$  de pequenas moléculas (KARLE; HAUPTMAN, 1950).

Uma vez que os fatores de estrutura  $|F(\mathbf{h})|$  e as fases  $\varphi(\mathbf{h})$  estão relacionadas matematicamente por meio do conhecimento da função densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$ , conforme equação 1.2.4.3, as amplitudes podem ser calculadas através das informações de densidade eletrônica e então as fases também podem ser calculadas a partir das amplitudes. Porém como  $\rho(\mathbf{r})$  está ligada ao fator estrutura por um procedimento matemático (Transformada de Fourier), caso haja restrições na densidade eletrônica evidentemente haverá restrições matemáticas correspondentes no fator estrutura. Sendo assim, para a elaboração do mapa de densidade, os métodos de solução devem atender a alguns critérios impostos para função densidade, tal como:

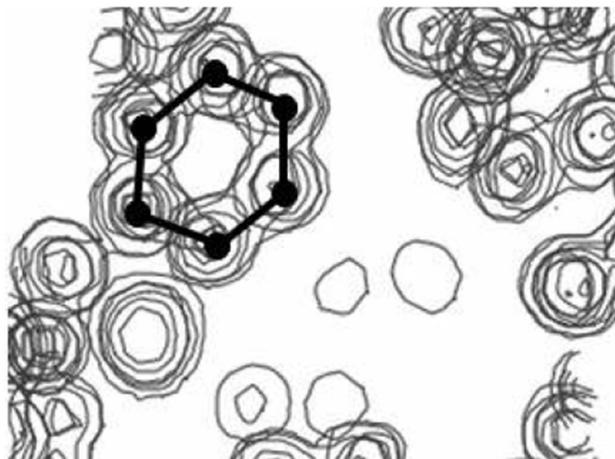
- A densidade ser sempre positiva;
- A densidade ser construída de átomos discretos.

Neste sentido, uma importante propriedade física da função de densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$  deve ser considerada: a atomicidade, onde  $\rho(\mathbf{r})$  é composta por átomos discretos. Como a distribuição da densidade eletrônica de forma detalhada não é relevante, o efeito das formas dos átomos dos fatores de estruturas  $F(\mathbf{h})$  é removido para convertê-lo em fatores de estruturas normalizados  $E(\mathbf{h})$ , assim é possível a utilização da atomicidade da função de densidade eletrônica. Deste modo, os Métodos Diretos são métodos que buscam derivar as fases, por meio dos fatores de estruturas coletados diretamente de um único conjunto de intensidades (ALMEIDA *et al.*, 2014; NAPOLITANO *et al.*, 2007; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

Durante o processo de resolução de uma estrutura cristalina, algumas fases são atribuídas respeitando alguns critérios, enquanto outras são obtidas através das relações entre as fases. Em seguida, essas fases são refinadas por um processo integrativo, resultando na obtenção das fases corretas. Com as informações corretas das intensidades e fases, a densidade eletrônica pode ser calculada e a estrutura resolvida. A esta altura, apesar do problema da fase ser considerado quase solucionado, o mapa de densidade eletrônica obtido não mostrará a posição exata dos átomos na cela unitária, pois, para isto seria necessário estender a série de Fourier ao infinito, o que torna o procedimento inviável. Portanto, qualquer mapa de densidade eletrônica é uma aproximação da realidade, pois carrega consigo algum erro percentual. Para o aperfeiçoamento destes mapas, são empregadas ferramentas de refinamento dos parâmetros estruturais, as quais utilizam o melhor conjunto de fases para cálculo dos mapas de densidade eletrônica, conforme pode ser observado no exemplo da Figura 2.4.1 Assim, o melhor mapa definido, revela muitas das posições atômicas

(ALMEIDA *et al.*, 2014; GIACOVAZZO *et al.*, 2011; NAPOLITANO *et al.*, 2007; WOOLFSON; ROBINSON, 1997).

**Figura 6.** Representação esquemática de um modelo de mapa de densidade eletrônica.



### 3.5 Bancos de dados cristalográficos

Após a resolução e refinamento de estruturas cristalinas através de metodologias cristalográficas e computacionais, as estruturas resolvidas dão origem a um arquivo, denominado *Crystallographic Information File* (CIF), que pode ser depositado em diversos bancos de dados cristalográficos. As informações obtidas através do depósito destas estruturas, que se dão através de dados de reflexões, ângulos, torsões e comprimentos de ligações interatômicas, bem como dados geométricos de cada composto, possibilitam o desenvolvimento de pesquisas científicas em diferentes áreas do conhecimento. Através destas informações é possível a aplicação de análises computacionais que explicam características intrínsecas das substâncias no estado sólido e também são capazes de predizerem propriedades físico-químicas das moléculas, tais como estabilidade físico-química, atividade biológica, solubilidade, reatividade química, etc.

Como exemplo de banco de dados cristalográficos podem ser citados o *International Centre for Diffraction Data* (ICDD), que é bastante utilizado pela indústria farmacêutica para avaliação de dados cristalográficos de diversos fármacos e o *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) o qual, em mais de 50 anos de existência, possui mais de 1 milhão de estruturas cristalinas depositadas. Assim como o ICDD, as informações encontradas neste banco de dados fornecem elementos de significativa importância para análise estrutural de diferentes compostos químicos, incluindo fármacos. (BRUNO *et al.*, 2017)

As informações depositadas no CCDC obtidas através do arquivo CIF são mais completas e abrangentes que o próprio artigo publicado para determinada estrutura. Isto porque o arquivo CIF fornece dados que possibilitam por exemplo verificar facilmente a geometria intramolecular de uma molécula inteira ou de seus fragmentos que podem ainda ser comparadas com os dados disponíveis nas bibliotecas do *software* Mogul<sup>®</sup>. Os resultados destas comparações são apresentados em uma ficha com dados estatísticos resumidos que permitem inferir se a geometria da molécula estudada é incomum ou não, possibilitando a validação da geometria molecular dentro da estrutura cristalina. (MACRAE *et al.*, 2008)

Através destes depósitos é possível também, por meio de programas computacionais como o Mercury<sup>®</sup> e o ConQuest<sup>®</sup>, visualizar os fragmentos correspondentes, parâmetros e demais dados associados às moléculas. Os parâmetros associados aos dados do ConQuest<sup>®</sup> são apresentados no Mercury<sup>®</sup> na forma de planilha onde as colunas podem ser classificadas em ordem crescente ou ordem decrescente. Adicionalmente, pode ser realizado o destaque de um determinado fragmento molecular no ConQuest<sup>®</sup> o qual pode ser representado também dentro do visualizador do Mercury<sup>®</sup>.

As especificidades do destaque realizado podem ser personalizadas para facilitar a análise de estruturas individuais ou múltiplas, permitindo uma avaliação comparativa entre as possíveis diferenças ou semelhanças na geometria molecular de diferentes compostos ou formas cristalinas. (MACRAE *et al.*, 2008)

Neste contexto, a execução deste trabalho baseou-se nas informações da estrutura cristalina da forma I do maleato de enalapril, que após resolvida e elucidada utilizando os fundamentos da metodologia cristalográfica descritas em tópicos anteriores, teve seu arquivo CIF depositado no banco de dados CCDC. A partir destes dados, foi possível realizar a análise topológica e supramolecular do composto assim como os cálculos da estrutura eletrônica.

#### 4. O ESTADO SÓLIDO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

As formas farmacêuticas que são constituídas por fármacos no estado sólido como por exemplo, comprimidos, cápsulas duras, grânulos, pós efervescentes, pós liofilizados, pós para reconstituição, dispersões semissólidas e suspensões orais, tópicas e injetáveis, constituem mais de 70% dos medicamentos comercializados atualmente. Isso se deve às inúmeras vantagens que se tem com a utilização destas formas: a facilidade de administração pelo paciente, o baixo custo para produção, a estabilidade físico-química que tende a ser maior em fármacos no estado sólido e, no caso de comprimidos, cápsulas duras, pós e grânulos, a baixa atividade de água que evita a proliferação de microrganismos e a decorrência de mecanismos de degradação como a hidrólise, por exemplo(AULTON; TAYLOR, 2013).

A estrutura cristalina bem como o tamanho e morfologia das partículas são propriedades físico-químicas elementares e fundamentais relacionadas ao estado sólido de um fármaco e estão intimamente ligadas às características desejáveis para o desenvolvimento de um medicamento. Isto porque estas propriedades estão diretamente associadas às características físicas, como a reologia, densidade, porosidade, coesão, fluidez, compressibilidade e compactabilidade, além da estabilidade físico-química, que é composta por propriedades como higroscopicidade, transições de fase cristalina, compatibilidade físico-química, solubilidade, cinética de solubilização, ponto de fusão e reatividade química (AULTON; TAYLOR, 2013; BAERTSCHI *et al.*, 2019; BERNSTEIN, 2020; LEE *et al.*, 2017).

No âmbito da tecnologia farmacêutica, estas características devem ser consideradas durante o desenvolvimento da formulação e do processo de fabricação de um medicamento, uma vez que os excipientes de escolha assim como os parâmetros das operações unitárias envolvidas na fabricação, interagem com as propriedades do estado sólido do fármaco. Desta forma, os atributos essenciais para a ação farmacológica desejada, como a estabilidade físico-química e a biodisponibilidade,<sup>2</sup> podem ser afetados (AULTON; TAYLOR, 2013; BERNSTEIN, 2020).

Regulatoriamente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), principal órgão governamental brasileiro responsável pela regulação e fiscalização das atividades envolvidas na produção e comercialização de medicamentos, dispõe de diversas resoluções que preconizam o controle e monitoramento das propriedades do estado sólido de um fármaco, corroborando com o

---

<sup>2</sup> Biodisponibilidade: extensão e velocidade em que a molécula ativa adentra o sistema de circulação sanguíneo e se torna disponível para ação no sítio farmacológico.

elevado impacto que as mesmas possuem para a eficácia de um medicamento (ANVISA, 2016, 2019). Desta forma, vários testes e análises relacionados à estrutura cristalina, morfologia e distribuição de tamanho de partículas são empregados pela indústria farmacêutica em insumos farmacêuticos ativos (IFAs) durante o seu recebimento como matéria-prima, após o seu processamento no medicamento final e durante todo o ciclo de estabilidade até o prazo final de validade do medicamento. Vale ressaltar, que a avaliação e monitoramento destas propriedades não se dá apenas para atendimento das normas regulatórias vigentes, mas também para a obtenção de uma base fundamentada que possibilita o desenvolvimento racional de um medicamento (AULTON; TAYLOR, 2013; BAERTSCHI *et al.*, 2019; BERNSTEIN, 2020).

#### 4.1 Polimorfismo de Fármacos

O polimorfismo é definido como a habilidade de uma substância existir no estado sólido com duas ou mais fases cristalinas que exibem diferentes empacotamentos ou conformações de moléculas na rede cristalina. Por consequência, cada polimorfo é uma fase cristalina distinta. Cristais de compostos farmacêuticos podem existir como entidades moleculares simples, denominadas polimorfos, ou como complexos moleculares com mais de um componente químico em sua rede cristalina, chamados hidratos ou solvatos. Os polimorfos, solvatos e hidratos de um composto podem exibir grande distinção em propriedades tais como (BERNSTEIN, 2020):

- Propriedades físicas: volume molar, densidade, índice de refração, propriedades óticas, térmicas e elétricas, condutividade, higroscopicidade e hábito cristalino;
- Propriedades termodinâmicas: temperaturas de fusão e sublimação, energia interna, entalpia, entropia, capacidade calorífica, energia livre e energia potencial química, pressão de vapor e solubilidade;
- Propriedades espectroscópicas: transições eletrônicas no espectro de ultravioleta e visível, transições vibracionais no espectro de infravermelho e Raman, e deslocamentos químicos em Ressonância Magnética Nuclear (RMN);
- Propriedades cinéticas: taxas de dissolução, taxas de reação de estado sólido, taxa de granulação, tempo de secagem e instabilidade do fármaco.

Tendo em vista que estas propriedades têm um efeito direto sobre a capacidade de processamento do fármaco, assim como na sua estabilidade e biodisponibilidade no medicamento, o polimorfismo está intimamente relacionado com a eficácia terapêutica das diversas formas farmacêuticas que são constituídas por fármacos no estado sólido (AULTON; TAYLOR, 2013; BERNSTEIN, 2020).

#### 4.2 A Utilização de Sais, Contraíons, Hidratos ou Solvatos

Algumas características intrínsecas dos fármacos no estado sólido como a baixa solubilidade ou alta reatividade química, são indesejáveis para o desenvolvimento de um medicamento, uma vez que podem prejudicar requisitos como biodisponibilidade ou estabilidade. Sendo assim, a tecnologia farmacêutica dispõe de estratégias durante o desenvolvimento do fármaco que possibilitam o aprimoramento destas características. Dentre estas estratégias encontram-se a utilização de fármacos na forma de sal, como por exemplo, na forma de maleatos, tartaratos, citratos ou sulfatos; complexados com um contraíon, como as formas cloridratos, potássicas e sódicas por exemplo, ou ainda em formas hidratadas ou solvatadas (BHARATE, 2021; HEALY *et al.*, 2017).

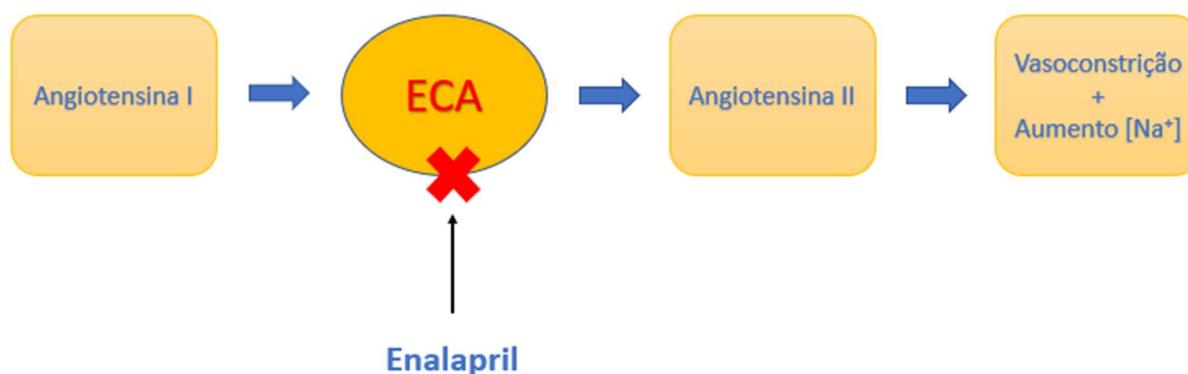
O sucesso destas estratégias reside no fato de que, ao complexar um íon, um sal, moléculas de água ou de solventes à uma molécula livre de um fármaco, características intramoleculares como ângulos, torsões e distâncias de ligações; e características supramoleculares como a topologia, são alteradas. Desta forma, os tipos de interações intermoleculares e a capacidade de se ionizar do composto também são modificadas, afetando diretamente propriedades como cinética de solubilização e reatividade química. No caso de formas cristalinas, estas estratégias têm impacto direto no rearranjo estrutural dos átomos e moléculas no interior do cristal, já que, com as modificações supramoleculares, as interações moleculares que dominam o empacotamento cristalino podem ser completamente alteradas, afetando também os níveis energéticos da rede cristalina (AULTON; TAYLOR, 2013; HEALY *et al.*, 2017).

## 5. MALEATO DE ENALAPRIL

O enalapril é um composto amplamente utilizado para o tratamento de hipertensão arterial. Neste contexto, pertence à classe dos fármacos que têm por ação farmacológica a inibição da ECA. A ECA, por sua vez, é uma enzima produzida pelo corpo humano que participa ativamente na regulação da pressão sanguínea através do Sistema Renina-Angiotensina. A ação fisiológica da ECA está associada à conversão do decapeptídeo inativo Angiotensina I, produzido pela Renina, em um octapeptídeo ativo, a Angiotensina II. Este último se liga aos receptores de angiotensina (AT<sub>1</sub>) que são responsáveis por ativar mecanismos fisiológicos diretamente relacionados com a regulação da pressão arterial. Os receptores AT<sub>1</sub> são responsáveis pela ativação de receptores β<sub>1</sub>-adrenérgicos nos vasos sanguíneos, causando a vasoconstrição e conseqüente aumento da pressão sanguínea, e o aumento de reabsorção de NaCl pelos rins durante a filtração glomerular, ocasionando uma elevação nos níveis sanguíneos de sódio (Na<sup>+</sup>) e, por conseqüência, aumento da pressão arterial (ARAFAT *et al.*, 2005).

Portanto ao inibir a ECA, o enalapril impede a decorrência de todos estes mecanismos fisiológicos descritos e assim, auxilia efetivamente no tratamento e controle da hipertensão arterial (Figura 5.1).

**Figura 7.** Esquema representativo da ação farmacológica do enalapril.



Estruturalmente, os inibidores da ECA podem ser classificados em três grupos:

- 1 - Inibidores da ECA que contêm grupamento sulfidríla, com origem relacionada à estrutura química do captopril;
- 2 - Inibidores da ECA que contêm grupamento dicarboxila, com origem relacionada à estrutura química do enalapril;
- 3 - Inibidores da ECA que contêm fósforo, estruturalmente relacionados com fosinopril.

A maioria dos inibidores da ECA, inclusive o enalapril, são pró-fármacos que contém grupos éster e são de 100 a 1000 vezes menos potentes do que suas moléculas ativas. A vantagem de serem utilizados em formas farmacêuticas medicamentosas reside no fato de apresentarem uma maior biodisponibilidade quando administrados por via oral (ARAFAT *et al.*, 2005; LAURENCE *et al.*, 2011).

Após administração oral o maleato de enalapril é absorvido e hidrolisado por esterases do fígado, formando o ácido dicarboxílico farmacologicamente ativo, enalaprilato que age como um potente inibidor da ECA. Enquanto o enalapril possui uma rápida absorção, com biodisponibilidade de cerca de 60% e concentração plasmática máxima em torno de 1 hora, as concentrações plasmáticas máximas de enalaprilato são observadas apenas após 3 a 4 horas da administração e, por se ligar fortemente à ECA, o enalaprilato apresenta uma meia-vida plasmática em torno de 11 horas, ao passo que o enalapril possui uma eliminação bem mais rápida, possuindo meia-vida de aproximadamente 3 horas. Desta forma, o fármaco é eliminado em quase sua totalidade pelos rins na forma inalterada do enalapril ou do enalaprilato e sua dosagem diária recomendada varia entre 2,5 e 40 mg/dia (ARAFAT *et al.*, 2005; LAURENCE *et al.*, 2011).

### 5.1 Estruturas Cristalinas do Maleato de Enalapril

No estado sólido, o maleato de enalapril apresenta duas distintas fases cristalinas (forma I e forma II) reportadas na literatura que, evidentemente, apresentam propriedades físico-químicas intrínsecas diferentes entre si. A forma I, a primeira a ser depositada no banco de dados cristalográfico *Cambridge Structural Database* (CSD) mantido pelo CCDC, foi elucidada por Précigoux e colaboradores em 1985 utilizando a metodologia de difração de raio-x de monocristal, e publicada em 1986. Esta forma cristaliza-se no grupo espacial  $P2_1$  pertencente ao sistema monoclinico. Sua cela unitária apresenta a seguinte métrica:  $a = 11,224 \text{ \AA}$ ;  $b = 6,645 \text{ \AA}$ ;  $c = 17,824 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 105,52^\circ$ ,  $\beta = \gamma = 90^\circ$  e volume de  $1280,903 \text{ \AA}^3$  (PRÉCIGOUX, *et al.*, 1985).

Já a forma II foi elucidada e teve seu depósito estrutural realizado em 2003 por Kiang e colaboradores, onde foi empregada a técnica de difração de raio-x de policristais para obtenção das informações cristalográficas da estrutura. A forma cristalina II do maleato de enalapril apresenta as seguintes características de cristalização: cristaliza – se no grupo espacial  $P2_12_12_1$ , pertencente ao sistema ortorrômbico, com cela unitária apresentando as seguintes métricas:  $a = 6,642 \text{ \AA}$ ;  $b = 11,211 \text{ \AA}$ ;  $c = 33,990 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$  e volume de  $2530,957 \text{ \AA}^3$ . Este último trabalho apresentou ainda um estudo teórico comparativo entre as formas I e II do maleato de enalapril a respeito da energia de

rede cristalina observada nestes dois polimorfos. Como resultados, os autores concluíram que a forma II é ligeiramente mais estável que a forma I ao apresentar uma energia de empacotamento cristalino 0,6 kcal/mol maior (KIANG, *et al.*, 2003). Estes dados ainda corroboraram com o estudo comparativo entre os polimorfos do maleato de enalapril publicado por Ip e colaboradores em 1986 que, através de dados experimentais calorimétricos, demonstraram resultados semelhantes aos dados teóricos obtidos por Kiang em 2003 (IP, *et al.*, 1986).

Por fim, em 2020, Davis e colaboradores conduziram um estudo, no qual foram empregadas técnicas espectroscópicas e métodos de cálculos teóricos, como a Teoria de Densidade Funcional (DFT – do inglês, *Density Functional Theory*), que demonstrou que em ambos os polimorfos uma rede de ligações de hidrogênio desempenham um papel fundamental na formação da estrutura cristalina. Ademais, foi demonstrado que a forma II do maleato de enalapril é mais estável que a forma I sob condições ambientais de temperatura e pressão devido a maior energia de coesão envolvida nas interações intermoleculares do empacotamento cristalino (DAVIS *et al.*, 2020).

## 5.2 Estabilidade do Maleato de Enalapril no Estado Sólido

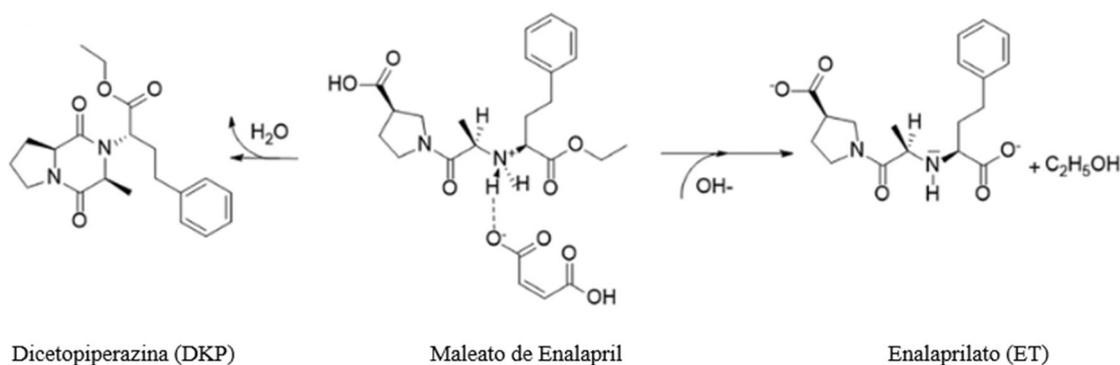
Conforme discutido anteriormente, o sal maleato de enalapril foi desenvolvido a partir de uma estratégia farmacêutica com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade oral do enalaprilato, que por sua vez exibe uma potente atividade farmacológica, porém não apresenta uma boa absorção pelo trato gastrointestinal. Desta forma, foi adicionado um grupo éster à molécula de enalaprilato com o objetivo de aumentar sua solubilidade, formando o enalapril.

Apesar do maleato de enalapril exibir elevada solubilidade, o desenvolvimento de medicamentos compostos por este fármaco representa um desafio para a indústria farmacêutica, tendo em vista que diversos fatores relacionados à incompatibilidade com excipientes e condições de processo produtivo podem desencadear reações de degradação do maleato de enalapril. Dentre estes fatores, se destacam o pH, a umidade e a temperatura (BOUT; VROMANS, 2022a; SU *et al.*, 2021a). Quando exposto a condições extremas de pH, umidade e temperatura, o maleato de enalapril tende a sofrer dois tipos de reação de degradação (GU; STRICKLEY, 1987; LIN *et al.*, 2002) (Figura 5.2.1):

1. Uma reação de ciclização, ocasionada pelo ataque eletrofilico do nitrogênio presente na cadeia alifática do enalapril ao oxigênio que compõe o grupo carboxílico, formando a impureza dicetopiperazina (DKP);
2. Uma reação de hidrólise que causa a quebra do grupo etil-éster formando o enalaprilato (ET).

Ambas as impurezas formadas por estes mecanismos, provocam a perda da eficácia terapêutica de medicamentos que utilizam o maleato de enalapril, já que a dicetopiperazina não apresenta atividade farmacológica e o enalaprilato, apesar de ser um metabólito ativo, não possui uma boa biodisponibilidade oral, desta forma não é absorvido de forma eficiente pelo organismo do paciente (VERBEECK *et al.*, 2017).

**Figura 8.** Esquema representativo dos mecanismos de degradação do maleato de enalapril.



Desta forma, a utilização de agentes estabilizadores nas formulações medicamentosas contendo o maleato de enalapril é amplamente realizada pela indústria farmacêutica. Neste contexto, diversas apresentações empregam o uso do bicarbonato de sódio (VERBEECK *et al.*, 2017). Este composto, ao se ionizar, libera íons de sódio (Na<sup>+</sup>) que interagem com o grupo ácido carboxílico presente na molécula de enalapril, dando origem a um novo sal, o enalapril sódico, que, tende a apresentar maior estabilidade físico-química que o maleato de enalapril. A reação pode ser descrita através do equilíbrio estequiométrico esquematizado abaixo (AL-OMARI *et al.*, 2001; DE SOUZA *et al.*, 2016; REZENDE *et al.*, 2008; SHERMAN, 1996; SU *et al.*, 2021b; VERBEECK *et al.*, 2017).



A conversão do sal do enalapril é reportada na literatura e pode ser observada nas apresentações comercializadas pela empresa Merck Sharp & Dohme Farmacêutica LTDA., que relata que a mudança do sal durante o processo de fabricação. A estratégia é baseada na conversão do grupo ácido carboxílico da molécula de enalapril (-COOH) em um sal sódico (-COONa) que previne a degradação do composto pelo mecanismo de ataque eletrofílico e posterior de ciclização (O'MALLEY JR. *et al.*, 2005).

Embora a forma II apresente-se ligeiramente mais estável que a forma I do maleato de enalapril quando avaliada de forma isolada, alguns estudo demonstram que a estratégia de utilização

do bicarbonato de sódio nas formulações medicamentosas contendo o fármaco em questão e a consequente conversão do sal durante o processo de fabricação, tem se mostrado eficiente na contenção dos mecanismos de degradação ocorridos durante os estudos de estabilidade apenas quando utilizada a forma cristalina I. Quando utilizada a forma II, as formulações ainda continuam a apresentar resultados elevados na formação das impurezas decorrentes dos mecanismos de ciclização. A tabela 5.2.1 exibe os resultados da formação da impureza dicetopiperazina (DKP) nas formulações contendo as formas I e II do maleato de enalapril e o agente estabilizador bicarbonato de sódio (EYJOLFSSON, 2018).

**Tabela 2.** Formação da impureza DKP antes do período de incubação para estudos de estabilidade (T0) e após 1 mês de incubação das formulações contendo as formas I e II do maleato de enalapril e o agente estabilizador bicarbonato de sódio.

Polimorfo	Concentração de DKP (%)	
	Tempo (T0)	1 Mês
Forma I, lote 1	< 0,15	< 0,15
Forma I, lote 2	< 0,15	< 0,15
Forma II, lote 1	0,34	7,94
Forma II, lote 2	0,31	9,31

## 6. ANÁLISE COMPUTACIONAL

### 6.2 Análise da Superfície de *Hirshfeld*

A partir do depósito da estrutura cristalina das formas I e II do maleato de enalapril que se encontra disponível no banco de dados CSD com a identificação 114186 e 114187, respectivamente, a metodologia cristalográfica seguiu com a análise dos dados.

A superfície de Hirshfeld (HS) foi concebida a partir do *software* CrystalExplorer17 que permite a avaliação das interações intermoleculares a partir da densidade eletrônica das moléculas em relação às moléculas vizinhas. Este cálculo se dá através da Equação 6.2.1:

$$w(\mathbf{r}) = \rho_{promolecule} / \rho_{procrystal} \quad (6.2.1)$$

$$w(\mathbf{r}) = \sum_{a \in molecule} \rho_a(\mathbf{r}) / \sum_{a \in crystal} \rho_a(\mathbf{r})$$

Onde  $\rho_a(\mathbf{r})$  é a densidade eletrônica esférica média centrada em um núcleo de um átomo, a pró-molécula é a soma dos átomos pertencentes à molécula e o pró cristal corresponde à soma dos átomos pertencentes ao cristal.

Além disso, calcula-se a distância entre os núcleos dos átomos internos até a superfície da molécula, onde tem-se o parâmetro *di* que indica as regiões doadoras de ligações na molécula; e, através da determinação da distância dos núcleos dos átomos externos até a superfície, obtém-se o parâmetro *de* que indica as regiões receptoras de ligações na molécula. Desta forma, é possível determinar o *dnorm*, que prediz todas as regiões da superfície molecular com possíveis interações cujos contatos são menores que o raio *van der Waals* (vdW).

Graficamente, as regiões com colorações mais intensas e avermelhadas evidenciam locais com interações mais significativas, enquanto as regiões de colocação azul representam locais em que os contatos moleculares são menos intensos. Assim, pode-se identificar regiões de particular importância para interações intermoleculares. Adicionalmente, é possível apresentar um resumo bidimensional dessas interações que possibilita quantificar a contribuição de cada interação em relação a superfície total. Esta avaliação é realizada através dos gráficos chamados *fingerprints*, onde os valores de *di* se encontram na abcissa e os valores de *de* são plotados na ordenada (SPACKMAN; JAYATILAKA, 2009; SPACKMAN *et al.*, 2021).

### 6.3 Modelagem Supramolecular

Adicionalmente foi empregada a Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM) para a análise estrutural do maleato de enalapril. Esta metodologia é bem conhecida e se destaca na caracterização de interações intramoleculares e intermoleculares (MATTA; BOYD, 2007). Assim, os processos de formação e quebra de ligações em reações químicas podem ser investigados por meio do monitoramento de propriedades topológicas (NANAYAKKARA; KRAKA, 2019). Uma das perguntas que a teoria QTAIM se propõe a responder é a seguinte: O que é um átomo em uma molécula ou em um cristal? Essa pergunta é respondida por meio de uma análise da topografia da densidade eletrônica da molécula ou do cristal. Quando um mapa de densidade eletrônica é analisado, observa-se um máximo local sobre cada núcleo. Então, um átomo é visto como um ponto de máximo em uma distribuição de densidade eletrônica (MATTA; BOYD, 2007).

Matematicamente, define-se o ponto em que as primeiras derivadas são nulas como um Ponto Crítico (CP - *Critical Point*) na densidade eletrônica, conforme a equação 5.3.1.

$$\nabla\rho(\mathbf{r}) = \frac{d\rho}{dx}\mathbf{i} + \frac{d\rho}{dy}\mathbf{j} + \frac{d\rho}{dz}\mathbf{k} = \vec{0}. \quad (5.3.1)$$

Vale ressaltar que o vetor zero significa que cada derivada no operador gradiente é zero. A matriz Hessiana da função  $\rho(\mathbf{r})$  é utilizada para descrever as curvaturas locais. O traço do Hessiano dessa função é conhecido como o Laplaciano da densidade,  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$ , que define as curvaturas  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  e  $\lambda_3$  em relação aos três eixos principais,  $x$ ,  $y$  e  $z$ , conforme a Equação 5.3.2.

$$\nabla^2\rho(\mathbf{r}) = \nabla \cdot \nabla\rho(\mathbf{r}) = \underbrace{\frac{\partial^2\rho(\mathbf{r})}{\partial x^2}}_{\lambda_1} + \underbrace{\frac{\partial^2\rho(\mathbf{r})}{\partial y^2}}_{\lambda_2} + \underbrace{\frac{\partial^2\rho(\mathbf{r})}{\partial z^2}}_{\lambda_3}. \quad (5.3.2)$$

Na teoria de átomo e moléculas, cada tipo de ponto crítico identifica uma estrutura química. Existem quatro pontos críticos estáveis na topologia da densidade  $\rho$ , são eles: Ponto Crítico Nuclear (NCP – *Nuclear Critical Point*), que é um máximo na posição de um núcleo, pois se caracteriza por três curvaturas negativas (3,-3); Ponto Crítico de Ligação (BCP – *Bond Critical Point*), com duas curvaturas negativas (3,-1); Ponto Crítico de Anel (RCP - *Ring Critical Point*), com duas curvaturas positivas (3,+1); Ponto Crítico de Sela (CCP - *Cage Critical Point*), com três curvaturas positivas (3,+3). O primeiro número identifica a quantidade de curvaturas diferentes de zero e o segundo é a soma dos sinais das curvaturas (MATTA; BOYD, 2007).

O número  $N$  de CPs em um sistema é definido como sendo o conjunto de características dele. Uma das ferramentas sugeridas para validação da consistência do conjunto de características do sistema é a relação seguinte: em uma molécula isolada a soma  $N_{NCP} - N_{BCP} + N_{RCP} - N_{CCP}$  é igual a 1; em um cristal, essa soma é igual a zero. O primeiro caso se aplica para um sistema finito isolado (molécula isolada), sendo uma extrapolação da relação de Poincaré-Hopf, e o segundo para redes periódicas infinitas (cristal), que é conhecida como equação de Morse (MATTA; BOYD, 2007).

A densidade eletrônica exibe um perfil característico como resposta à interação entre dois átomos: uma única linha de densidade localmente máxima ligando os dois núcleos, conhecida como caminho de ligação (BADER, 1998). Para a descrição das interações de camada aberta e camada fechada (*closed-shell* e *open-shell interactions*), utilizam-se as energias relacionadas aos BCPs, que surgem no ponto de menor valor de densidade ao longo dos caminhos de ligação entre os átomos do sistema químico (NANAYAKKARA; KRAKA, 2019).

As energias dos BCPs que serão avaliadas nesse estudo são: densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$ , densidade de energia eletrônica total  $H[\rho(\mathbf{r})]$ , laplaciano  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})]$ , densidade de energia potencial  $V[\rho(\mathbf{r})]$  e densidade eletrônica cinética  $G[\rho(\mathbf{r})]$ . A densidade de energia potencial, a densidade de energia cinética e o laplaciano estão relacionados de acordo com a equação a seguir:

$$\left(\frac{\hbar^2}{4m}\right)\nabla^2\rho(\mathbf{r}) = 2G(\mathbf{r}) + V(\mathbf{r}), \quad (5.3.3)$$

onde,

$$G(\mathbf{r}) = \frac{\hbar^2}{2m} N \int d\tau' \nabla\Psi^* \cdot \nabla\Psi.$$

As propriedades da estrutura eletrônica do maleato de enalapril foram calculadas utilizando o funcional híbrido M06-2X, que é indicado no estudo de interações não covalentes (ZHAO; TRUHLAR, 2006, 2008). As funções de base utilizadas são 6-311++G\*\*, empregando funções difusas e de polarização para melhorar a descrição dos átomos de hidrogênio e as interações intermoleculares. Todos os cálculos de estrutura eletrônica foram realizados utilizando o pacote computacional GAUSSIAN 09<sup>®</sup>. A avaliação das propriedades topológicas foi realizada por meio do pacote computacional Multiwfn<sup>©</sup> (LU; CHEN, 2012).

## 6.4 Dinâmica Molecular

O método de Dinâmica Molecular de Car-Parrinello (CPMD) é bem conhecido por ser um dos métodos mais precisos e eficientes de Dinâmica Molecular *Ab Initio*. Esses métodos combinam a dinâmica clássica dos núcleos com a teoria da estrutura eletrônica para garantir uma boa descrição eletrônica e iônica de um sistema atômico computacionalmente tratável. A CPMD é utilizada como base para muitos dos métodos de simulação de última geração (HUTTER, 2012). O método de Car-Parrinello (CP) utiliza a aproximação de Born-Oppenheimer para separar as coordenadas nucleares e eletrônicas, tratando os íons dentro do formalismo da mecânica clássica e os elétrons dentro do formalismo de Kohn e Sham (CAR; PARRINELLO, 1985; PASTORE *et al.*, 1991).

A junção do tratamento clássico para os íons, e tratamento quântico para os elétrons, é feita por meio da Lagrangeana de CP, que descreve o movimento iônico pela integração das equações de movimento de Newton e, simultaneamente, introduz uma dinâmica Newtoniana fictícia para os elétrons (ALAVI, 2009; CAR; PARRINELLO, 1985; PASTORE *et al.*, 1991). A Lagrangeana de CP trata o problema quântico dentro de um formalismo da mecânica clássica e é utilizada como base para o cálculo da dinâmica real dos íons e da dinâmica fictícia dos elétrons, conforme pode ser visto na equação 5.4.1.

$$\mathcal{L}_{CP} = \frac{\mu}{2} \sum_{i=1}^n \langle \dot{\psi}_i(\mathbf{r}) | \dot{\psi}_i(\mathbf{r}) \rangle + \frac{1}{2} \sum_{I=1}^N M_I \dot{\mathbf{R}}_I^2 - E[\{\psi_i\}, \{\mathbf{R}_I\}] + \sum_{ij} \Lambda_{ij} (\langle \psi_i(\mathbf{r}) | \psi_j(\mathbf{r}) \rangle - \delta_{ij}). \quad (5.4.1)$$

O primeiro termo dessa equação é a energia cinética fictícia eletrônica, que é a novidade apresentada pelo método de CP, onde as funções de onda eletrônicas ( $\{\psi_i(\mathbf{r})\}$ ) são consideradas como se fossem campos clássicos, em que a primeira derivada da função de onda eletrônica ( $\{\dot{\psi}_i(\mathbf{r})\}$ ) é utilizada como um análogo a velocidade clássica. Inseriu-se também um parâmetro de adiabaticidade intitulado como massa fictícia, que é representado por  $\mu$ . Esse termo possui dimensão de energia. O segundo termo dessa equação é a energia cinética iônica, onde  $M_I$  é a massa e  $\dot{\mathbf{R}}_I$  a velocidade dos íons. O terceiro termo é o funcional de energia de Kohn-Sham, representando a energia potencial da Lagrangeana. O quarto termo dessa equação garantirá as restrições de ortonormalidade aos orbitais de Kohn-Sham (KS), se os núcleos estiverem fixos, através dos multiplicadores de Lagrange. Nesse modelo a equação de Schrödinger eletrônica é resolvida a cada nova configuração nuclear calculada classicamente, via Lagrangeana de CP (ALAVI, 2009; BORNEMANN; SCHÜTTE, 1998; CAR; PARRINELLO, 1985; PASTORE *et al.*, 1991).

Outro ponto importante da abordagem de CP é o fato de que ela é muito eficiente do ponto de vista computacional, visto que a atualização dos graus de liberdade eletrônicos para cada configuração iônica não envolve a minimização explícita do funcional da densidade eletrônica (PASTORE *et al.*, 1991). Em função disso, permite a descrição de propriedades eletrônicas e estruturais de sistemas grandes, de maneira computacionalmente mais eficiente, quando comparado a outros métodos de dinâmica quântica. O método de CP é muito utilizado para descrever o efeito do meio solvente em reações químicas, bem como na descrição de processos de transferência de próton (DURLAK; LATAJKA, 2010; FRANK; NADIMI, 2021; GAO *et al.*, 2019; KIAKOJOURI *et al.*, 2020; PLIEGO, 2022; SCHWERMANN; DOLTSINIS, 2020; SHEKAARI; JAFARI, 2021; SHRIVASTAV *et al.*, 2018; STARE *et al.*, 2011). Isso ocorre em razão desse método permitir a avaliação dinâmica das ligações de hidrogênio que ocorrem em escala molecular e a investigação de toda a gama de interações intra e intermoleculares (de camada fechada (*Closed-Shell Interactions*) e camada aberta (*Open-Shell*)) que podem ocorrer em um processo dinâmico.

As simulações computacionais *ab initio* de DMCP foram realizadas utilizando o código de CP implementado no programa CPMD<sup>®</sup>. A função de onda eletrônica foi levada ao mínimo de energia, uma vez que o CPMD não trabalha em estados excitados (ALAVI, 2009). A integração numérica das equações de movimento foi realizada com o algoritmo de *Velocity Verlet*. A estrutura eletrônica foi tratada dentro da aproximação do gradiente generalizado, usando o funcional de troca-correlação PBE (PERDEW *et al.*, 1996). Os elétrons centrais foram tratados através dos pseudopotenciais *ultramoles de vanderbilt* e os elétrons de valência foram representados por um conjunto de funções de base de ondas planas. As funções de base foram truncadas em uma energia cinética de corte (*Ecutwfc*) de 25 Ry. A massa fictícia  $\mu$  utilizada foi de 400 u.a. e a etapa de integração,  $\Delta t$ , utilizada foi de 5 a.t.u., o que corresponde a aproximadamente 0,121 fs. Em ambas as simulações, a temperatura do sistema iônico foi mantida em torno de 300 K usando o termostato *Nosé-Hoover* e o sistema eletrônico evoluiu sem o uso do termostato. As coordenadas de posições atômicas foram salvas a cada cinco etapas de integração (0,605 fs). As simulações de dinâmica molecular dos sistemas atingiram 36,4 ps.

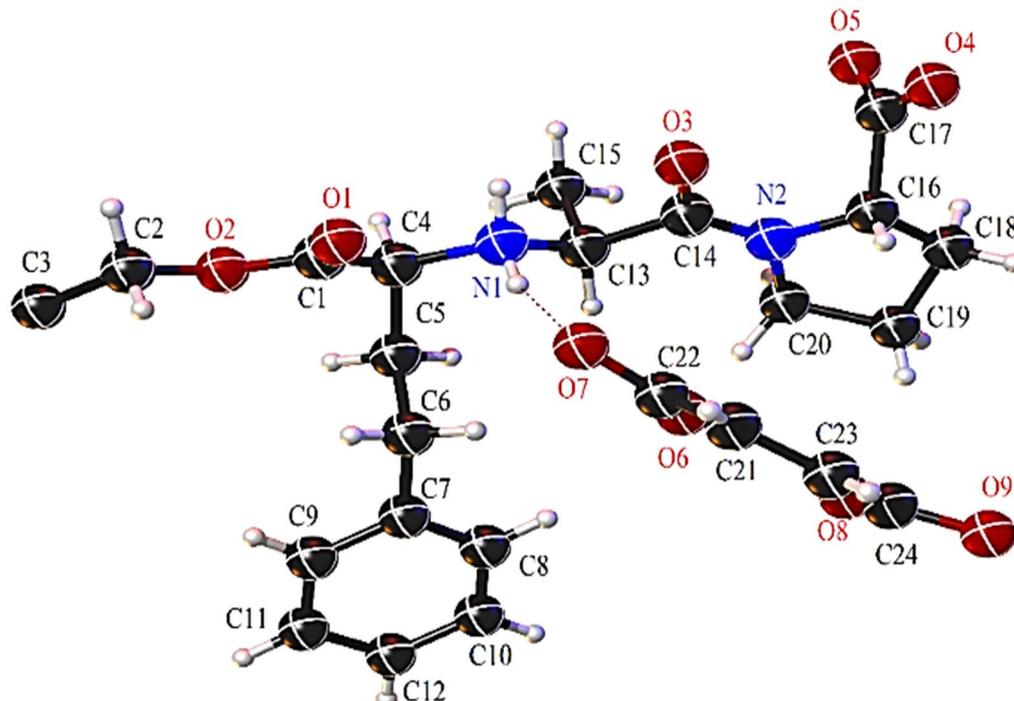
A análise dos dados para determinação dos parâmetros geométricos, função de distribuição radial de pares (FDR), tempo médio de residência (TMR), entre outros, foi realizada através do software GQTEA, desenvolvido pelo prof. Dr. Ademir João Camargo, líder do Grupo QTEA (Grupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis).

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 Descrição do estado sólido

O ME é obtido a partir de uma reação de enalapril com a molécula de ácido maleico. A molécula de maleato apresenta carga negativa em um átomo de oxigênio, e o enalapril, possui em sua estrutura um átomo de nitrogênio realizando quatro ligações, apresentando assim uma carga positiva ( $N^+$ ). As cargas de ambas as moléculas se complementam através de uma ligação de hidrogênio. Visto que a forma I foi elucidada por difração de raios-X de monocristal, os dados cristalográficos experimentais coletados para este polimorfo permitiram o refinamento de quase todas as posições dos átomos de hidrogênio. A Figura 6.1.1 mostra o ORTEP da forma I e a Tabela 1 apresenta os parâmetros do sistema cristalino de ambos os polimorfos.(IP; BRENNER, 1987a; KIANG *et al.*, 2003b).

**Figura 9.** Elipsóides térmicos dos átomos não-H com nível de probabilidade de 50% da forma I do ME



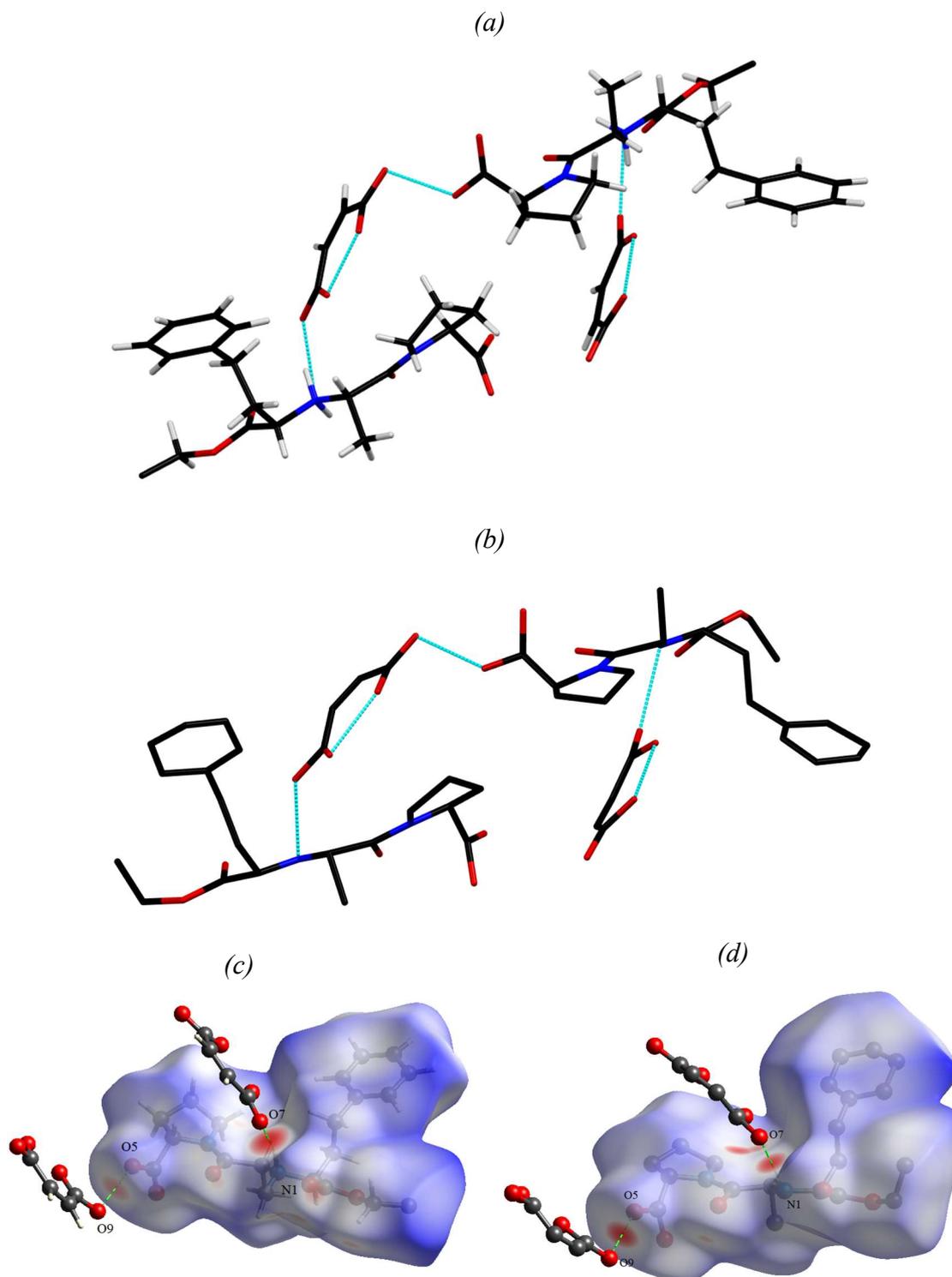
**Tabela 3.** Dados cristalográficos das formas I e II do ME

Dados do cristal	Forma I	Forma II
Fórmula Química	$C_{20}H_{29}N_2O_5^+ \cdot C_4H_3O_4^-$	$C_{20}H_{29}N_2O_5^+ \cdot C_4H_3O_4^-$
Peso Molecular	492.5	492.5
Sistema Cristalino	Monoclínico	Ortorrômico
Grupo Espacial	$P2_1$ (4)	$P2_12_12_1$ (19)
a (Å)	11.224(4)	33.9898(3)
b (Å)	6.645(2)	11.2109(1)
c (Å)	17.824(5)	6.64195(7)
$\alpha$ (°)	90	90
$\beta$ (°)	105.52(3)	90
$\gamma$ (°)	90	90
Volume (Å <sup>3</sup> )	1280.9	2530.96
# de reflexões	2459	-

As formas I e II do ME apresentam duas moléculas ionizadas na unidade assimétrica (um ânion maleato e um cátion enalapril). Em ambas as estruturas cristalinas, os cátions enalapril estão indiretamente ligados entre si através de interações com o mesmo ânion maleato. Este ânion realiza uma ligação de hidrogênio entre o oxigênio O9 e o oxigênio O5 do grupo ácido carboxílico presente na molécula de enalapril de outra unidade assimétrica, unindo o par de cátions enalapril. Desta maneira, forma-se um caminho eletrônico e uma superestrutura que se estende ao longo do eixo cristalográfico através da alternância entre o ânion maleato e o cátion enalapril. A análise de HS (Figuras 6.1.2c e 6.1.2d) demonstra as regiões com as maiores densidades eletrônicas (em vermelho), correspondendo aos átomos de N1 e O5 em ambas as formas cristalinas.

Considerando que a impureza DKP resulta de uma reação de degradação nestas mesmas porções da molécula: um ataque eletrofílico intramolecular do amino secundário da cadeia alifática, ao grupo ácido carboxílico, resultando na expulsão de uma molécula de água, formação de uma ligação N-C e ciclização (BOUT; VROMANS, 2022a; GU; STRICKLEY, 1987; IP; BRENNER, 1987a; SU *et al.*, 2021a), pode se inferir que as ligações de hidrogênio entre o enalapril e o maleato em ambos os polimorfos, conferem mais estabilidade ao enalapril ao proteger regiões moleculares que apresentam maior reatividade química.

**Figura 10.** Ligações de hidrogênio na (a) forma I a na (b) forma II. Análise de HS para a (c) forma I e (d) forma II.



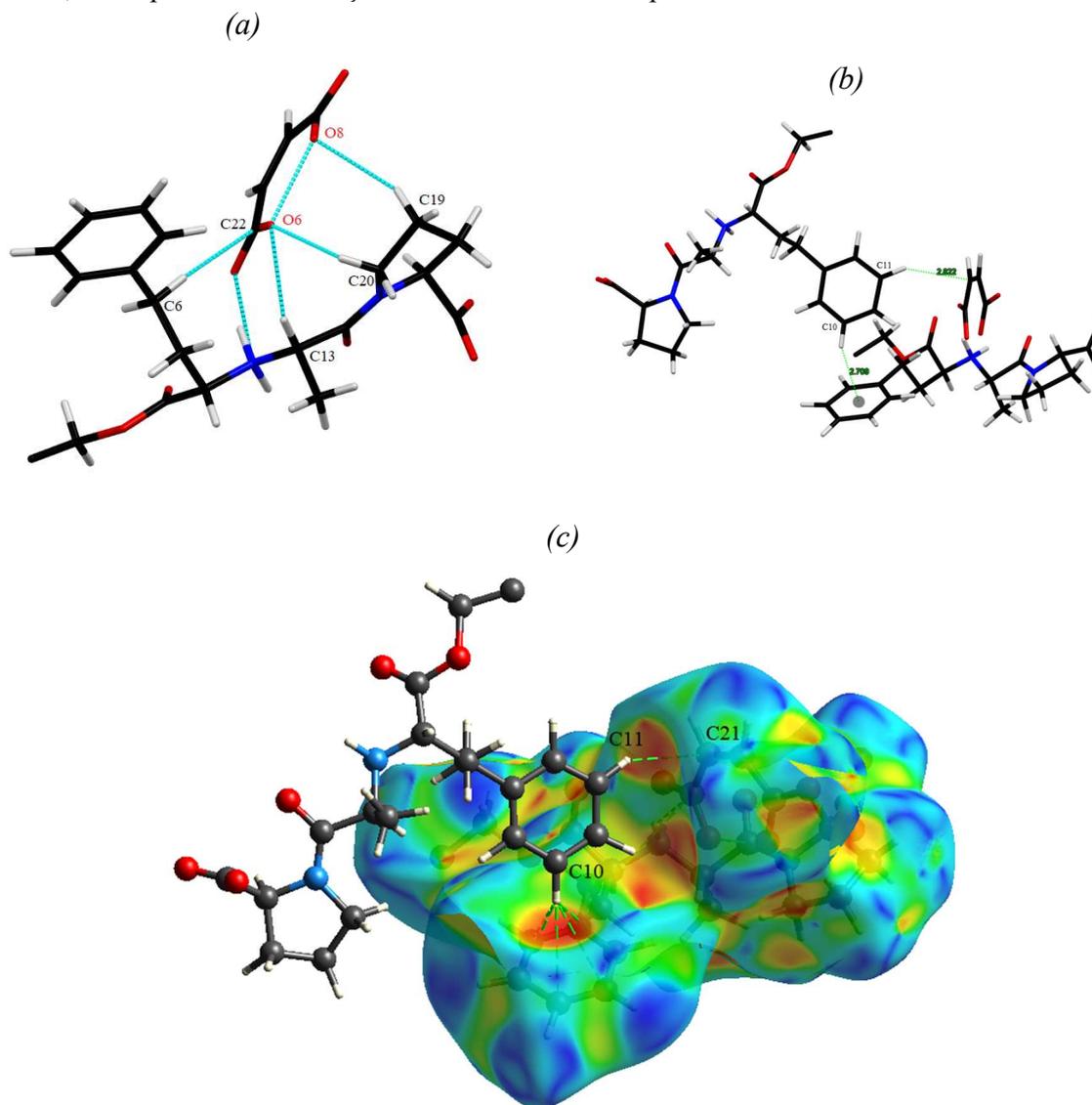
Visto que a elucidação estrutural da forma cristalina I se deu através de difração de raios-x de monocristal e possibilitou o refinamento das posições dos átomos de hidrogênio na estrutura, o arquivo CIF depositado para este cristal permitiu a identificação de outras interações intermoleculares. Além da interação descrita anteriormente, verifica-se a presença de uma interação do tipo C-H...C, que ocorre a partir do carbono C6 com o carbono C22, presente na molécula de maleato. Adicionalmente, são observadas também interações do tipo C-H...O ocorrendo a partir dos carbonos C13, C19 e C20, com os átomos de oxigênio O6 e O8 do maleato.

Partindo para as interações envolvidas no empacotamento cristalino da forma I, é possível observar uma interação do tipo C-H... $\pi$ , ocorrendo a partir do carbono C10 do anel aromático do enalapril com ressonância do anel aromático da molécula de enalapril presente na unidade assimétrica vizinha e uma interação do tipo C-H...C, entre o carbono C11 do anel aromático do enalapril e o carbono C21 do maleato. As distâncias e ângulos de todas as interações mencionadas estão plotadas na Tabela 6.1.2 e, através da Figura 6.1.3, é possível observar estas interações intermoleculares.

**Tabela 4.** Distâncias e ângulos das interações da forma I do maleato de enalapril.

Interação	Comprimento (Å)	Ângulo (°)
C10-H... $\pi$	2,71	139,2
C11-H...C21	2,82	147,0
C6-H...C22	2,89	162,1
C13-H...O6	2,79	108,1
C20-H...O6	2,86	116,7
C19-H...O8	2,63	156,2
N1-H...O7	1,78	165,1

**Figura 11.** (a) Interações da forma I (b) Análise de shape index da forma I – as regiões fortemente destacadas em tom alaranjado sobre o anel aromático do enalapril assim como sobre o carbono C21 do maleato, correspondem às interações C-H $\cdots$  $\pi$  e C-H $\cdots$ C respectivamente.

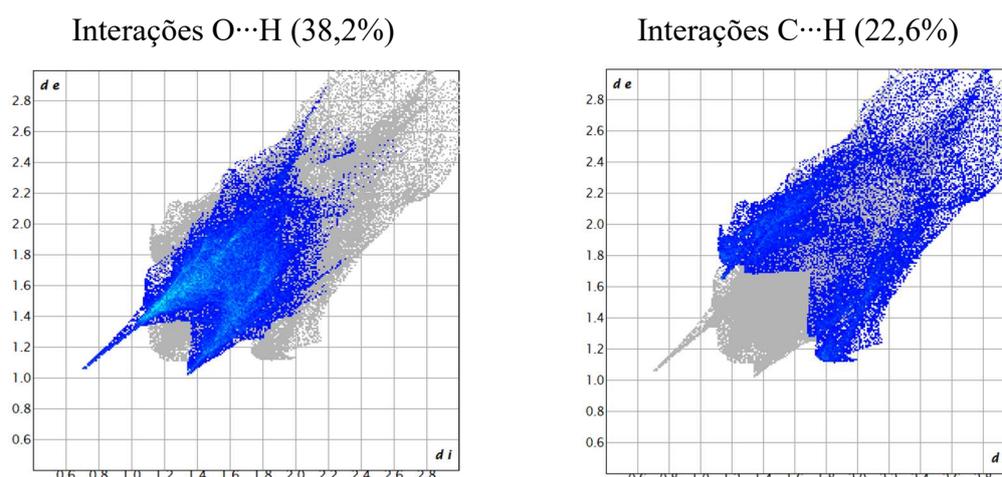


Vale destacar que a interação C-H $\cdots$  $\pi$  observada é relativamente comum na natureza, ocorrendo principalmente entre ácidos fracos e bases fracas. O grau energético e a estabilidade destas podem variar e dependem do tipo de fragmento molecular que realiza o contato: quanto maior a for a força doadora de próton do grupo C-H envolvido na interação, maior o efeito estabilizador. No caso da interação observada no empacotamento cristalino da forma I do maleato de enalapril, a mesma parte de um grupo

C-H aromático. Nestes casos, a energia envolvida na interação varia entre 1,5 e 2,5 kcal/mol e é caracterizada por ser mais forte do que aquelas observadas em grupos C-H alifáticos (NISHIO, 2011).

Por fim, foram realizados os cálculos de *fingerprints* para a forma I, onde determinou-se a intensidade e o percentual da participação de cada interação intermolecular no número total de interações que as moléculas realizam. A análise evidenciou que o maior percentual de interações é composto de interações do tipo O...H (38,2%) seguido de interações do tipo C...H (22,6%), que somam 60,8% das interações e reforçam os dados obtidos nas análises detalhadas anteriormente. Conforme pode ser observado na Figura 6.1.4, além de ocorrerem em maior número, as interações do tipo O...H são também as que apresentam maiores intensidades.

**Figura 12.** Participação das interações O...H e C...H no empacotamento cristalino da forma I do maleato de enalparil



## 7.2 Análise de Modelagem Supramolecular

As interações O...H observadas no arranjo supramolecular do maleato de enalparil são consideradas ligações de hidrogênio. No entanto, as ligações de hidrogênio são tidas como um fenômeno muito mais abrangente. Da mesma forma que essas ligações podem apresentar características muito próximas de ligações covalentes, elas também podem apresentar propriedades bem semelhantes as interações de vdW.

Sabe-se que, na ligação de hidrogênio, a interação total é predominantemente eletrostática, o que leva a uma acentuada flexibilidade nas distâncias e nos ângulos de ligação. Isso significa que, de acordo com as palavras de Steiner (2002), somente definições amplas e gerais podem fazer jus à complexidade e variabilidade química do fenômeno (DESIRAJU; STEINER, 2001; GRABOWSKI,

2006; STEINER, 2002). Neste contexto, é consenso que uma ligação de hidrogênio apresenta algumas características específicas que podem ser avaliadas e usadas como padrão.

Em concordância com a vasta literatura que discute essas ligações, Jeffrey resumizou alguns critérios geométricos para classificar a força de uma ligação de hidrogênio em forte (de caráter fortemente covalente), moderada (de caráter principalmente eletrostático), e fraca (de caráter eletrostático/disperso). Uma ligação de hidrogênio forte tem comprimentos entre 1.2 Å e 1.5 Å e ângulos entre 170° e 180°, enquanto uma ligação de hidrogênio moderada tem comprimentos entre 1.5 Å e 2.2 Å e ângulos maiores que 130°. Já uma ligação de hidrogênio fraca tem comprimentos maiores que 2.2 Å e ângulos maiores que 90° (JEFFREY; SAENGER, 1991). Visto que as principais forças de coesão observadas entre as estruturas que forma os cristais de ME são de ligações de hidrogênio, parte dos critérios utilizados para avaliação da mobilidade do átomo de hidrogênio nos sistemas avaliados se referem a classificação deste tipo de interação.

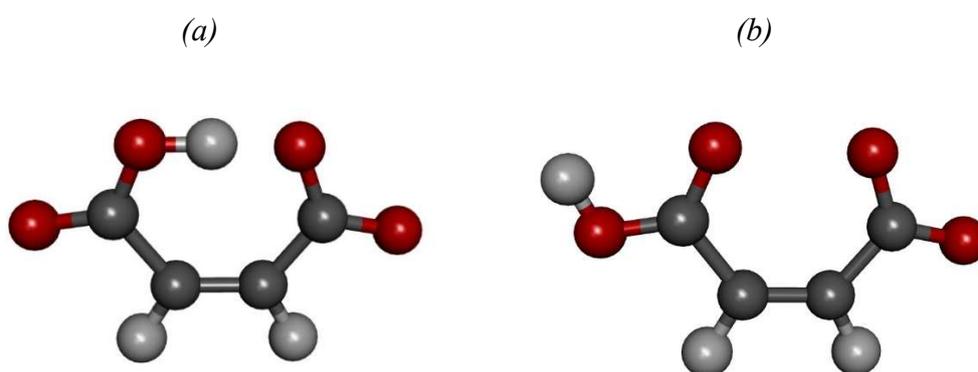
Para a descrição das interações intermoleculares no cristal do maleato de enalapril e na estrutura de mínima energia correspondente, bem como a mobilidade do átomo de hidrogênio, utilizou-se os critérios da teoria QTAIM. O primeiro deles é a existência de um BCP ao longo do caminho de ligação, conforme anteriormente descrito. As energias relacionadas aos BCPs fornecem indicações sobre o caráter da interação. É conhecido que  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})] < 0$  e  $\rho(\mathbf{r}) > 0.2$  indicam uma ligação covalente;  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})] > 0$  e  $\rho(\mathbf{r}) < 0.1$  indicam uma interação do tipo *closed-shell* (iônica, *van der Waals*, ligações de hidrogênio e outras). Em relação à força de uma ligação de hidrogênio, esta pode ser caracterizada da seguinte forma: uma interação fraca (de caráter eletrostático) tem  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})] > 0$  e  $H[\rho(\mathbf{r})] > 0$ , uma interação de força média (de caráter parcialmente covalente) tem  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})] > 0$  e  $H[\rho(\mathbf{r})] < 0$ , e uma interação forte (de caráter covalente) tem  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})] < 0$  e  $H[\rho(\mathbf{r})] < 0$  (ROZAS *et al.*, 2000). O caráter das interações intermoleculares também pode ser demonstrado através da razão entre  $V[\rho(\mathbf{r})]$  e  $G[\rho(\mathbf{r})]$ . É conhecido que se  $(G[\rho(\mathbf{r})]/|V[\rho(\mathbf{r})]|) < 0.5$  o caráter da ligação é predominante covalente, e se  $(G[\rho(\mathbf{r})]/|V[\rho(\mathbf{r})]|) > 1$  a ligação é não-covalente. Se  $0.5 < (G[\rho(\mathbf{r})]/|V[\rho(\mathbf{r})]|) < 1$  a interação tem características parcialmente covalentes (COSTA *et al.*, 2021; ESRAFILI, 2012; HOSSAIN *et al.*, 2021; NEMATIKANDE *et al.*, 2020).

Para a realização dos cálculos de estrutura eletrônica foram definidos quatro sistemas, a fim de avaliar o deslocamento do átomo de hidrogênio entre os átomos N1 e O7, bem como a estabilidade do empacotamento cristalino, relacionando-o com a estrutura de menor energia referente a fase gasosa do maleato de enalapril. Os quatro sistemas distintos do maleato de enalapril foram

analisados, por meio da teoria do funcional da densidade (DFT) e posteriormente o QTAIM. Dois sistemas reproduzindo a estrutura cristalina, através do congelamento dos átomos mais pesados, e dois sistemas na configuração de menor energia, por meio da otimização da geometria.

Os dois sistemas que são levados ao mínimo de energia diferem entre si pela localização do átomo de hidrogênio no maleato. Um deles considera o maleato de enalapril com o hidrogênio do maleato centralizado e voltado em direção a carbonila (conforme visto na Figura 6.2.1a) e o outro considera o maleato de enalapril com hidrogênio descentralizado (conforme visto na Figura 6.2.1b). Esses dois sistemas também são avaliados com os átomos congelados, reproduzindo a conformação da estrutura no estado sólido

**Figura 13.** Variações na posição do átomo de hidrogênio para a realização dos cálculos teóricos. Observamos em (a) o hidrogênio do maleato, que ocupa uma posição central, voltado em direção a carbonila e em (b) o hidrogênio da carboxila descentralizado, posicionado na extremidade da molécula.

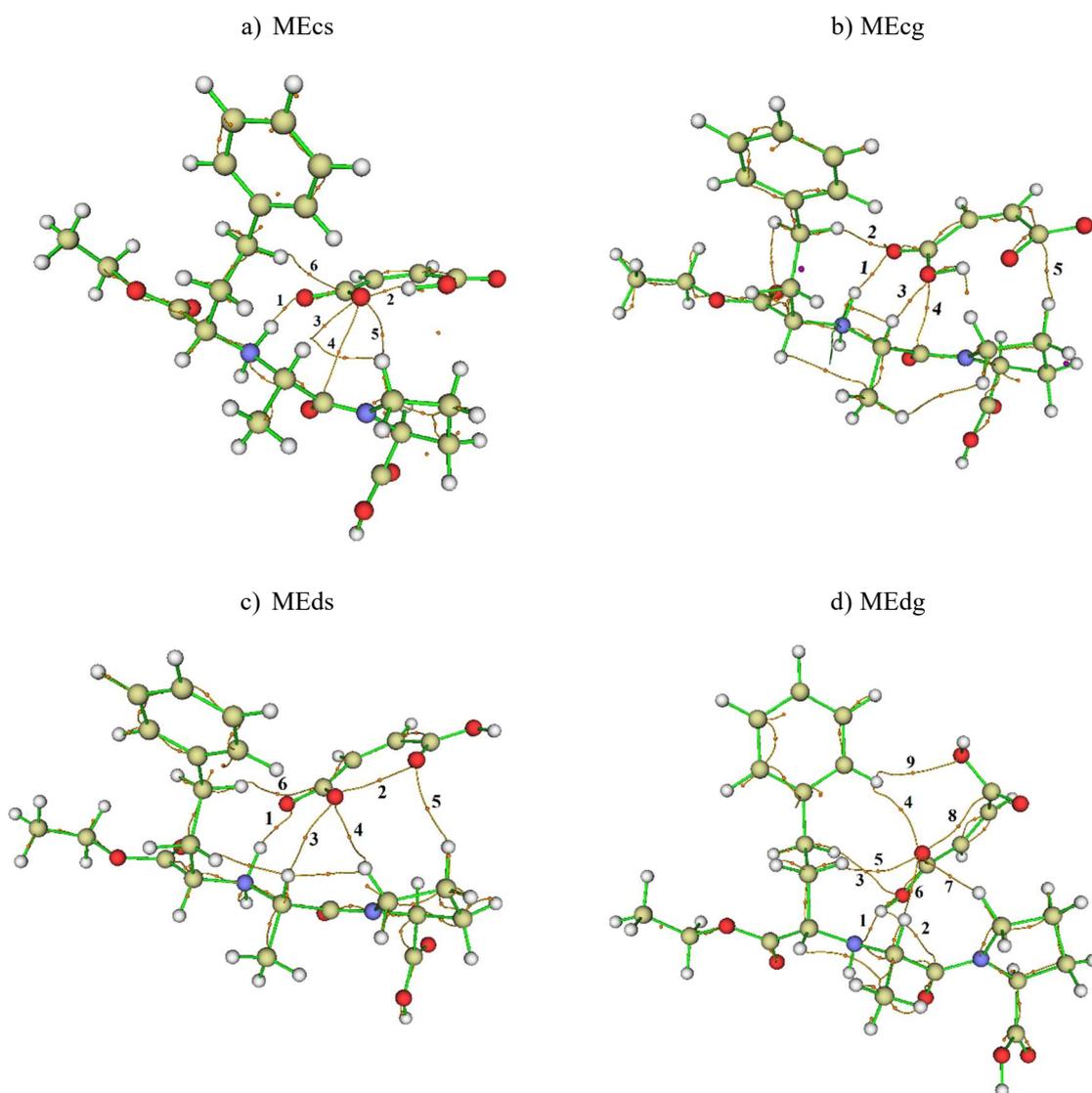


As estruturas referentes aos sistemas estudados podem ser vistas na Figura 6.1.2 e as energias dos pontos críticos de ligação entre os átomos estão dispostas na Tabela 6.2.1. Foram avaliadas todas as interações que apresentaram um caminho de ligação bem definido. A avaliação utilizou os critérios especificados na metodologia acerca das propriedades dos BCPs que surgem no ponto de menor valor da densidade eletrônica ao longo do caminho de ligação entre os átomos interagentes.

Os sistemas analisados foram nomeados da seguinte maneira: o MEcs (Figura 6.2.1a) é referente a conformação de estado sólido do maleato de enalapril com o hidrogênio do maleato centralizado e voltado em direção a carbonila. O MEcg (Figura 6.2.1b) é referente a estrutura de menor energia (fase gasosa) do maleato de enalapril nessa mesma configuração. O MEds (Figura 6.2.1c) é referente a conformação de estado sólido do maleato de enalapril com hidrogênio descentralizado e o MEdg (Figura 6.2.1d) é referente a estrutura de menor energia (fase gasosa) do

maleato de enalapril nessa mesma configuração. A numeração dos CPs está ilustrada na Figura 6.2.1 e descrita na Tabela 6.2.1.

**Figura 14.** Localização e numeração dos pontos críticos e dos caminhos de ligação nos sistemas avaliados.



**Tabela 5.** Distâncias e ângulos das ligações de hidrogênio, Densidade eletrônica ( $\rho(r)$ ), Densidade de energia ( $H[\rho(r)]$ ), Laplaciano da densidade eletrônica ( $\nabla^2[\rho(r)]$ ), Densidade de energia potencial ( $V[\rho(r)]$ ) e densidade eletrônica cinética ( $G[\rho(r)]$ ) referentes aos valores de BCPs ao nível de teoria M062x/6-311++G\*\*.

Sistema	Interação	Ligação (Å)	Ângulo (°)	$\rho(r)$	$H[\rho(r)]$	$\nabla^2[\rho(r)]$	$V[\rho(r)]$	$G[\rho(r)]$	$\frac{G[\rho(r)]}{ V[\rho(r)] }$
EMcs	N1-H...O7 (CP1)	1.665	170.5	0.103589	-0.063257	0.565297	-0.267838	0.204581	0.763824
	O8-H...O6 (CP2)	1.355	172.7	0.295020	-0.370311	0.099114	-0.765400	0.395089	0.516186
	C13-H...O6 (CP3)	2.697	110.6	0.025672	0.001663	0.063147	-0.012461	0.014124	1.133456
	O6-C14...O6 (CP4)	3.141	106.4	0.023733	-0.000043	0.038858	-0.009800	0.009757	0.995612
	C20-H...O6 (CP5)	2.770	118.6	0.028414	0.000009	0.037731	-0.009415	0.009424	1.000956
	C6-H...C22 (CP6)	2.774	168.5	0.041435	0.001541	0.098591	-0.021566	0.023107	1.071455
EMcg	N1-H...O7 (CP1)	1.465	164.1	0.205779	-0.224547	0.456890	-0.563316	0.338769	0.601384
	O8-H...O6 (CP2)	1.511	169.1	0.106757	-0.071399	0.208022	-0.194803	0.123404	0.633481
	C13-H...O6 (CP3)	2.220	132.9	0.061922	-0.006101	0.130119	-0.044732	0.038631	0.863610
	C20-H...O6 (CP4)	2.388	142.6	0.049290	-0.005978	0.075408	-0.030809	0.024830	0.805933
EMds	N1-H...O7 (CP1)	1.632	171.3	0.092196	-0.055523	0.696453	-0.285159	0.229636	0.805291
	O8-H...O6 (CP2)	2.411	108.9	0.038473	-0.005534	0.025028	-0.017324	0.011791	0.680616
	C13-H...O6 (CP3)	2.688	111.2	0.021558	-0.000728	0.032179	-0.009501	0.008773	0.923376
	C20-H...O6 (CP4)	2.756	119.6	0.020912	-0.001280	0.024536	-0.008693	0.007414	0.852870
	C19-H...O8 (CP5)	2.536	158.0	0.023386	-0.000510	0.038607	-0.010673	0.010162	0.952122
	C6-H...C22 (CP6)	2.773	168.2	0.030110	0.000329	0.054791	-0.013040	0.013369	1.025230
EMdg	N1-H...O7 (CP1)	1.663	167.5	0.067282	-0.022645	0.229980	-0.102786	0.080140	0.779678
	C14-H...O7 (CP2)	2.608	103.7	0.051906	-0.006708	0.035642	-0.022328	0.015619	0.699525
	C6-H...O7 (CP3)	2.506	151.7	0.038815	-0.000380	0.082027	-0.021266	0.020887	0.982178
	C8-H...O6 (CP4)	2.500	135.2	0.020169	-0.001901	0.055462	-0.017667	0.015766	0.892398
	C5-H...O6 (CP5)	2.633	121.5	0.036840	-0.002710	0.039275	-0.015239	0.012529	0.822167
	C13-H...O6 (CP6)	2.372	120.2	0.046551	-0.002926	0.078917	-0.025582	0.022656	0.885623
	C20-H...O6 (CP7)	2.336	138.3	0.042876	-0.006116	0.041795	-0.022682	0.016565	0.730315
	C23-C24...O6 (CP8)	2.626	81.2	0.053239	-0.007399	0.042411	-0.025400	0.018001	0.708701
C8-H...O9 (CP9)	2.552	126.8	0.021290	-0.000048	0.058746	-0.014784	0.014735	0.996686	

A interação N1-H...O7 (CP1) mostrou um caráter predominantemente eletrostático, com distâncias de aproximadamente 1,6 Å (N1-H) e ângulos de aproximadamente 170°. Os valores da

distância da ligação são superiores ao limite estabelecido para ligações fortemente covalentes, enquanto os ângulos estão no limite inferior. Isso sugere um caráter parcialmente covalente para essa interação em todos os sistemas avaliados. Uma vez que a interação N1-H...O7, nos sistemas MEcs e MEEdg, apresentou valor maior que 0,1 para a densidade eletrônica e  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$ ,  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$   $\rho(r) < 0.1$  é observada uma interação do tipo *closed shell*, como ligação de hidrogênio.

Nos sistemas MEEds e MEEdg, essa interação mostrou  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$  e  $\rho(r) < 0.1$ , caracterizando um comportamento de interação do tipo *closed shell*. Para os quatro sistemas, a interação N1-H...O7 apresentou  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$  e  $H[\rho(r)] < 0$ , caracterizando uma interação de força moderada, com caráter parcialmente covalente. O  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]|$  foi avaliado e os resultados mostraram que os quatro sistemas concordam entre si e corroboram com a classificação de caráter parcialmente covalente para a interação N1-H...O7, visto que os valores desta razão se mantiveram na faixa de  $0.5 < (G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]|) < 1$ . No sistema MEcs, a interação mais forte é a O8-H...O6 (CP2), já que possui o menor comprimento de ligação, 1.355 Å, e maior ângulo de ligação, 172.7°, a razão  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]| = 0.516$  e  $\rho(r) > 0.2$ , reforçam o caráter predominantemente covalente da ligação. As interações C13-H...O6, C20-H...O6 e C6-H...22 têm  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$ ,  $H[\rho(r)] > 0$  e  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]| > 1$ , demonstrando caráter puramente não-covalente e correspondendo, portanto, à ligações fracas de hidrogênio.

O sistema MEEds se difere do sistema MEcs pelo aparecimento da interação C19-H...O8 e desaparecimento da interação O3-C14...O6. Quase todas as interações do MEEds mostram  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$  e  $H[\rho(r)] < 0$  e a razão  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]|$  se mantém entre 0.5 e 1, demonstrando o caráter parcialmente covalente destas interações. A única interação que diverge deste comportamento é a C6-H...C22, que possui  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$ ,  $H[\rho(r)] > 0$  e  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]| > 1$ , caracterizando-se como uma ligação fraca, não-covalente.

No sistema MEEds existe uma boa estabilização da estrutura no estado sólido, visto que todas as interações apresentam  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$  e  $H[\rho(r)] < 0$  e a razão  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]|$  se mantém entre 0.5 e 1. Estes parâmetros concordam entre si e reforçam o caráter parcialmente covalente das interações avaliadas.

As quatro principais interações observadas no estado de mínima energia do maleato de enalapril no sistema MEcg apresentaram  $\nabla^2[\rho(r)] > 0$  e  $H[\rho(r)] < 0$ , assim como  $0.5 < (G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]|) < 1$  configurando interações de força moderada, com caráter parcialmente covalente. A interação mais forte do sistema MEcg é a N1-H...O7, que possui um comprimento de ligação de 1.465 Å, um ângulo de 164.1°, razão  $G[\rho(r)]/|V[\rho(r)]|$  próximo de 0.5 e  $\rho(r) > 0.2$ ,

demonstrando um caráter predominantemente covalente. As interações N1-H...O7, C13-H...O6 e C20-H...O6 também foram observadas na conformação cristalográfica e se mantiveram quando o sistema foi levado à configuração de energia mínima. Para estas interações houve uma diminuição das distâncias das ligações, um aumento nos ângulos e a diminuição da razão  $(G[\rho(\mathbf{r})]/|V[\rho(\mathbf{r})]|)$ . Portanto, elas se tornaram mais fortes no estado de mínima energia em relação à conformação do estado sólido.

No sistema MEdg, em que os átomos do sistema foram levados ao mínimo de energia, observa-se a transferência do hidrogênio do enalapril para o maleato e, em consequência disso, os átomos O6 e O7 se tornam mais reativos e interagem simultaneamente com vários outros átomos do sistema. Todas as interações desse sistema apresentam  $\nabla^2[\rho(\mathbf{r})] > 0$  e  $H[\rho(\mathbf{r})] < 0$  e a razão  $G[\rho(\mathbf{r})]/|V[\rho(\mathbf{r})]|$  se mantém entre 0.5 e 1. Esses parâmetros concordam entre si e reforçam o caráter parcialmente covalente das interações avaliadas. O oxigênio O7 participa de três interações de caráter parcialmente covalente, a saber C14-H...O7 (CP2), C6-H...O7 (CP3) e N1-H...O7 (CP1), sendo essa última mais forte que as demais, visto que possui um comprimento de ligação de 1.663 Å e um ângulo de ligação de 167.5° e ambos os valores estão muito próximos ao limite superior esperado para uma ligação fortemente covalente. O átomo O6 participa das interações C8-H...O6 (CP4), C5-H...O6 (CP5), C13-H...O6 (CP6), C20-H...O6 (CP7) e C23-C24...O6 (CP8), que possuem comprimentos de ligação entre 2.3 Å e 2.6 Å e, em sua maioria, ângulos maiores que 90°, valores esperados para uma ligação de hidrogênio fraca. Observa-se um giro de aproximadamente 90° na carboxila do maleato, dando origem a interação C8-H...O9 (CP9), que também possui um caráter parcialmente covalente, correspondendo a uma ligação de hidrogênio fraca, com 2.552 Å e 126.8°.

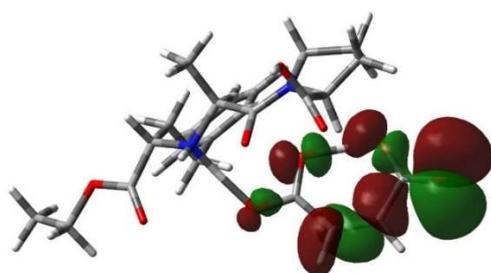
Os orbitais de fronteira, conhecidos como orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*) e orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO - *Lowest Occupied Molecular Orbital*), estão diretamente associados à capacidade dos átomos de doar ou aceitar elétrons. A energia HOMO está relacionada à capacidade da molécula de doar elétrons, e a energia LUMO está relacionada à capacidade da molécula de aceitar elétrons. A diferença de energia entre o HOMO e o LUMO ( $E_G$ ) é um importante índice de estabilidade química. Um elevado valor de  $E_G$  implica numa alta estabilidade em relação à reatividade química, enquanto valores de  $E_G$  mais baixos, indicam uma menor energia de excitação e, conseqüentemente, um composto mais polarizável (RAUK, 2001).

A Figura 6.2.2, mostra uma representação gráfica dos orbitais de fronteira, suas energias ( $E_{HOMO}$  e  $E_{LUMO}$ ) e a energia  $E_G$  calculadas usando Teoria do Funcional da Densidade com nível de

teoria M06-2X/6-311++G(d,p) para as configurações MEC e MED no estado sólido e na fase gasosa. Observando a figura temos que os valores de  $E_G$  para MECg e MEcs são, respectivamente,  $7.501 \text{ eV}$  e  $7.219 \text{ eV}$ , com uma diferença percentual relativa entre elas de 3,76%. Isto significa que a conformação da MEC na fase gasosa é mais reativa do que no estado sólido. E os valores de  $E_G$  para MEDg e MEDs são, respectivamente,  $6.363 \text{ eV}$  e  $7.099 \text{ eV}$ , com uma diferença percentual relativa entre elas de 11,57%. O que significa que a conformação da MED no estado sólido é mais reativa que na fase gasosa. Para o MED temos uma diferença relativa mais acentuada o que mostra que a posição do hidrogênio no maleato afeta a energia dos orbitais moleculares nesta conformação.

**Figura 15.** Orbitais de fronteira para as conformações (a) MEcs, b) MECg, c) MEDs e d) MEDg

(a) HOMO (acima) e LUMO (abaixo) para MEcs.

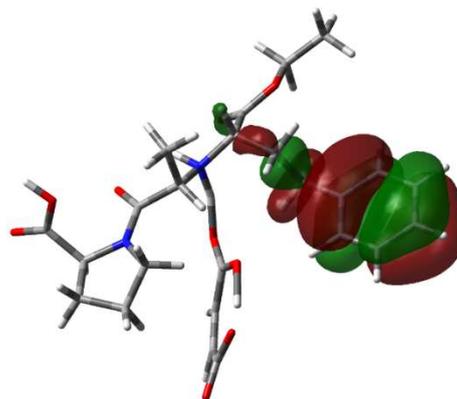


$$E_{HOMO} = -0.31223 \text{ Ha} = -8.4962142142 \text{ eV}$$

$$E_{LUMO} = -0.03657 \text{ Ha} = -0.9951207565 \text{ eV}$$

$$E_g = 0.27566 \text{ Ha} = 7.5010934577 \text{ eV}$$

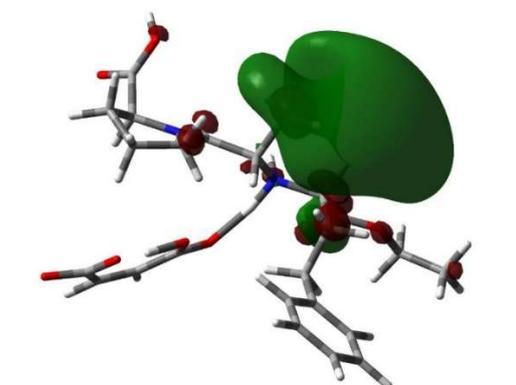
(b) HOMO (acima) e LUMO (abaixo) para MECg.



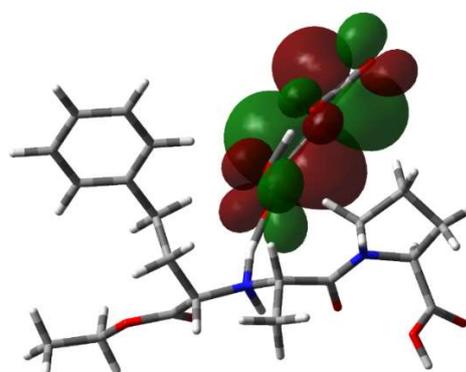
$$E_{HOMO} = -0.30249 \text{ Ha} = -8.2311752159 \text{ eV}$$

$$E_{LUMO} = -0.03372 \text{ Ha} = -0.9175682776 \text{ eV}$$

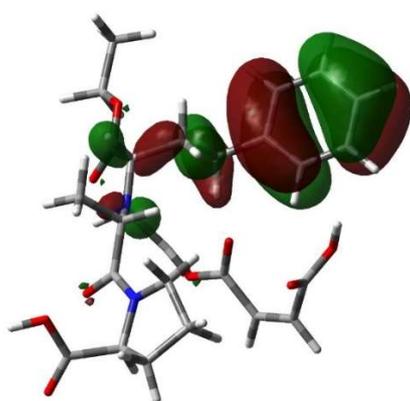
$$E_g = 0.26529 \text{ Ha} = 7.2189112798 \text{ eV}$$



(c) HOMO (acima) e LUMO (abaixo) para MEDs.



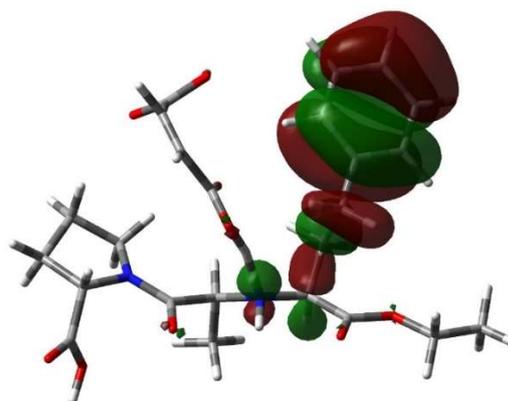
(d) HOMO (acima) e LUMO (abaixo) para MEDg.



$$E_{HOMO} = -0.25493 \text{ Ha} = -6.9370012159 \text{ eV}$$

$$E_{LUMO} = -0.02111 \text{ Ha} = -0.5744325723 \text{ eV}$$

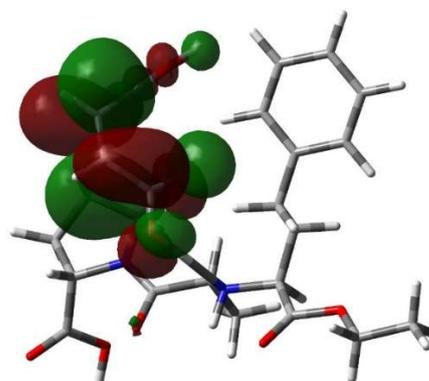
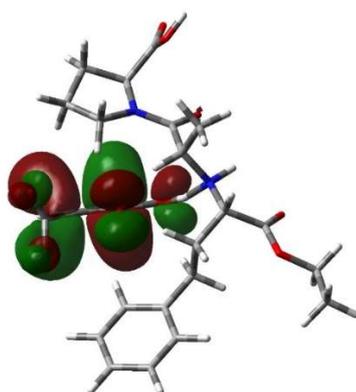
$$E_g = 0.23382 \text{ Ha} = 6.3625686435 \text{ eV}$$



$$E_{HOMO} = -0.29522 \text{ Ha} = -8.033348366 \text{ eV}$$

$$E_{LUMO} = -0.03433 \text{ Ha} = -0.9341672292 \text{ eV}$$

$$E_g = 0.26089 \text{ Ha} = 7.0991811368 \text{ eV}$$

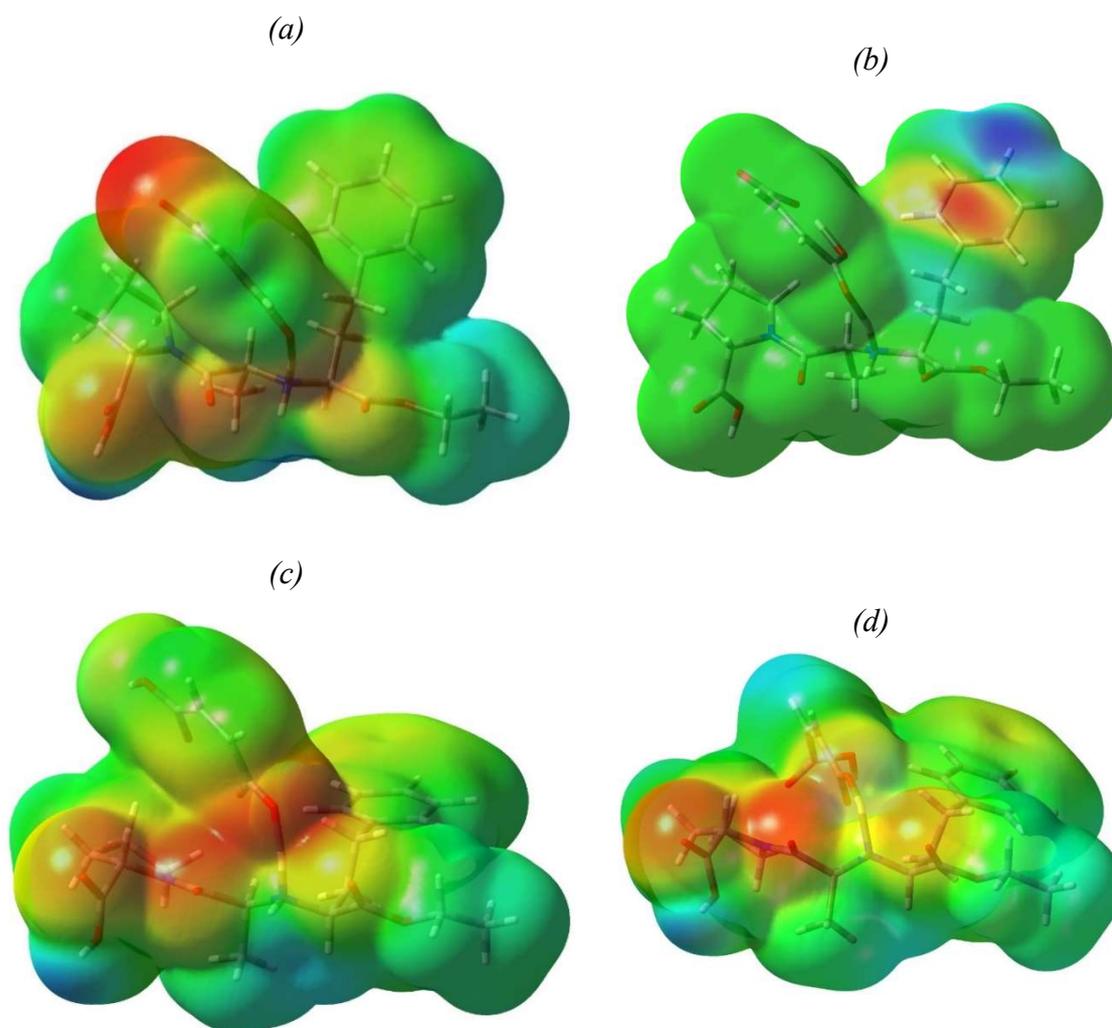


A superfície de potencial eletrostático (ESP) é outra ferramenta importante para a compreensão da reatividade química de moléculas e sólidos. Consiste em um mapa que fornece informações sobre a distribuição de cargas nas moléculas, mostrando as regiões com excesso de elétrons em vermelho e as regiões com deficiência de elétrons em azul.

Foram avaliados as ESPs (Figura 6.2.3) das estruturas de maleato de enalapril em fase gasosa (MEcg e MEDg) e na conformação do estado sólido (MEcs e MEDs). Uma maior densidade eletrônica é verificada na região dos oxigênios O8 e O9 do maleato na estrutura MEcs, região em que, na estrutura cristalina da forma I, observa-se a interação do maleato com uma molécula de enalapril de outra unidade assimétrica. Percebe-se que a estrutura MEcg, correspondente a estrutura em fase gasosa, apresenta uma concentração de cargas negativas na região da ressonância do anel aromático, o que demonstra a capacidade de aceitar elétrons em uma interação intermolecular. Observa-se ainda uma forte polarização do potencial eletrostático na vizinhança desse anel aromático.

Na Figura 6.2.3c, que mostra a conformação ME<sub>ds</sub>, observa-se que as regiões mais eletronegativas, e portanto, mais propensas a receberem elétrons, estão nos sítios O<sub>6</sub>, O<sub>8</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>1</sub>, O<sub>3</sub> e O<sub>4</sub>. Na Figura 6.2.3d, que mostra a conformação ME<sub>dg</sub>, observa-se uma concentração de cargas negativas nos sítios O<sub>4</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>1</sub>, O<sub>7</sub> e O<sub>8</sub> e, novamente, as regiões menos eletronegativas são vistas nos hidrogênios ligados aos oxigênios O<sub>5</sub> e O<sub>9</sub>. Em ambas as estruturas ME<sub>d</sub> (s e g), as regiões menos eletronegativas são vistas nos hidrogênios ligados aos oxigênios O<sub>5</sub> e O<sub>9</sub>, evidenciando a polarização de cargas nesses sítios. É vista ainda uma concentração de cargas negativas, ainda que fraca, na região da ressonância do anel aromático para as estruturas ME<sub>ds</sub> e ME<sub>dg</sub>.

**Figura 16.** ESP para as conformações (a) ME<sub>cs</sub>, (b) ME<sub>cg</sub>, (c) ME<sub>ds</sub> e (d) ME<sub>dg</sub>.

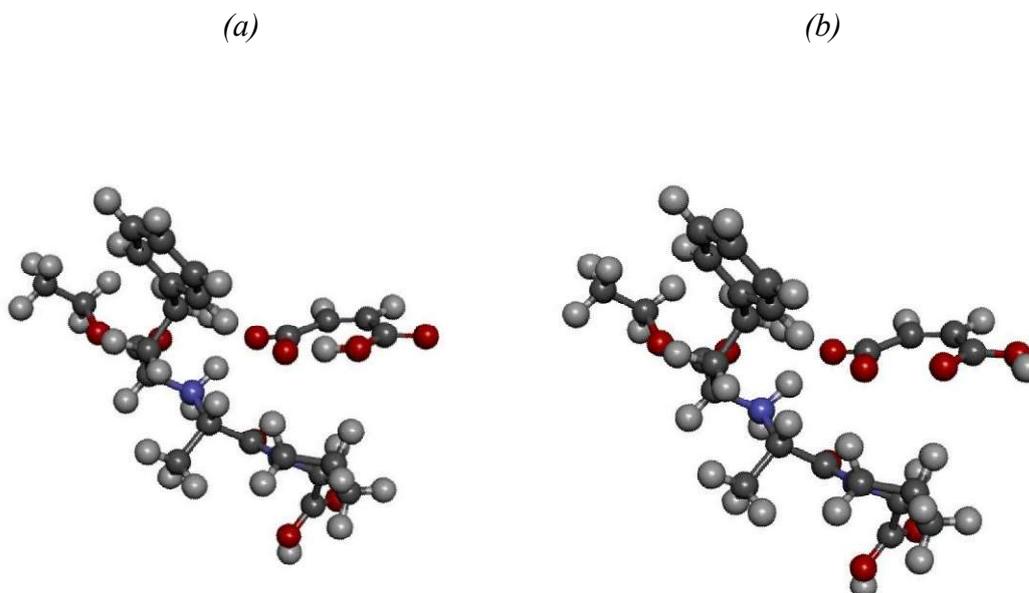


### 7.3 Cálculos de Dinâmica Molecular

De acordo com a avaliação estática de QTAIM, percebeu-se que a mudança da posição do hidrogênio nas estruturas avaliadas afeta a estabilização do cristal de maleato de enalapril, pois altera as principais interações entre as moléculas que formam o cristal. Para verificar como ocorre o processo dinâmico da formação e quebras das ligações de hidrogênio entre o enalapril e o ácido maleico em função da mudança na posição de um átomo de hidrogênio foi realizada a DMCP desses sistemas em fase gasosa.

Foram considerados dois sistemas de maleato de enalapril em fase gasosa, diferenciando-os pela localização do átomo de hidrogênio na molécula de maleato: MEc e MEd. Foram construídas duas “caixas” (que representam somente as dimensões do sistema e não uma barreira física real) cúbicas de 15 Å, com uma molécula de enalapril ( $C_{20}H_{29}N_2O_5^+$ ) e uma de maleato ( $C_4H_3O_4^-$ ) em cada sistema. Ambos os sistemas possuem dois átomos de nitrogênio, nove átomos de oxigênio, 32 átomos de hidrogênio e 24 átomos de carbono, totalizando 67 átomos em cada um deles. A Figura 6.3.1 mostra ambos os sistemas denominados MEc e MEd.

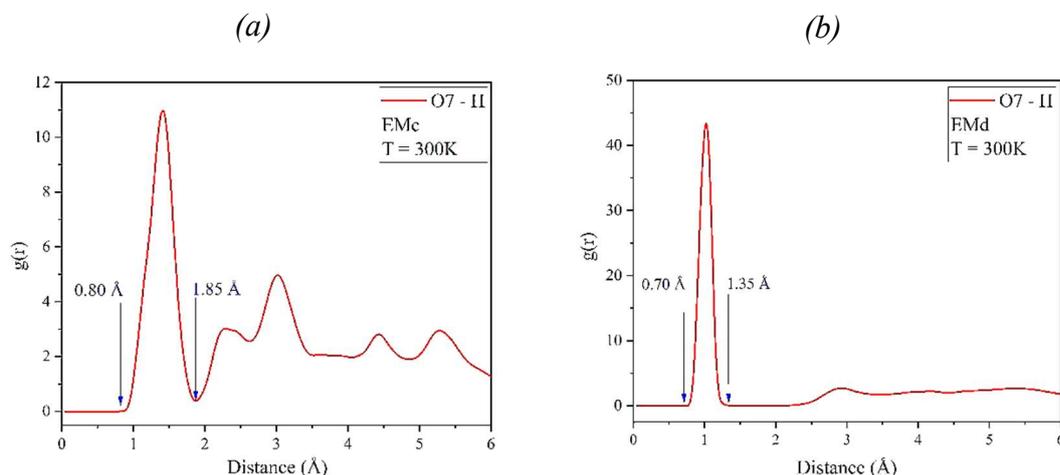
**Figura 17.** (a) Sistema MEc, com o hidrogênio do maleato centralizado e voltado em direção a carbonila. (b) Sistema MEd, com hidrogênio do maleato em posição descentralizada



O oxigênio O7 interage com o hidrogênio ligado ao N1 nos dois sistemas considerados. Por meio da Função de Distribuição Radial de Pares (FDR),  $g(r)$ , centrada no átomo O7 (Figura 6.3.2), com os hidrogênios do sistema, é verificado um pico bem definido entre 0.8 Å e 1.85 Å para o sistema

MEc e um pico bem definido entre 0.7 Å e 1.35 Å para o sistema ME<sub>d</sub>. Isto indica que a primeira camada de solvatação do oxigênio O7 com os hidrogênios é bem estabelecida em ambos os sistemas, reforçando a existência da interação do oxigênio O7 com o H do maleato dentro dos limites de distâncias característicos de uma ligação de hidrogênio (até 2.2 Å para ligações de força moderada) durante a evolução da dinâmica molecular. Nos dois sistemas o grupo amino realiza uma ligação de hidrogênio bastante estável com o H do maleato, entretanto esta interação é mais forte no sistema ME<sub>d</sub>, visto que o limite máximo da primeira camada de solvatação é de 1.35 Å, enquanto no sistema ME<sub>c</sub>, este limite atinge 1.85 Å.

**Figura 18.** FDR centrado no átomo O7 com os hidrogênios do sistema (a) ME<sub>c</sub> e do sistema (b) ME<sub>d</sub> a 300K

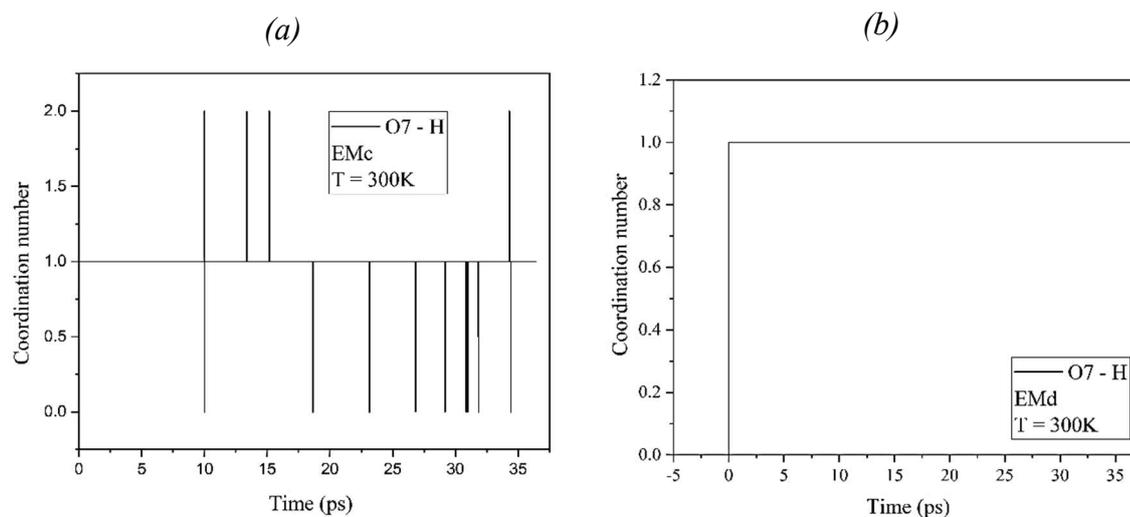


O Tempo Médio de Resistência (TMR) descreve a estrutura da camada de solvatação dependente do tempo. É definida como a razão entre o tempo de residência do átomo no sítio avaliado e o número de vezes que o átomo entra e sai da camada. O TMR do oxigênio O7 com o hidrogênio do maleato é de 1.0 ps no sistema ME<sub>c</sub> e 12.4 ps no sistema ME<sub>d</sub>. Assim, o TMR do sistema ME<sub>d</sub> é muito superior e indica que o H do grupo amino permanece na primeira camada de solvatação (entre 0.7 Å e 1.35 Å) do oxigênio O7 durante toda a simulação, realizando poucas trocas (entradas e saídas do sítio).

A Figura 6.3.3 mostra o número de coordenação do O7 com os hidrogênios para ambos os sistemas avaliados. Este número de coordenação é igual a 1 sempre que um átomo está dentro da primeira camada de solvatação centrada em um átomo específico. Em ambos os sistemas, durante todo o tempo de simulação existe pelo menos um átomo de hidrogênio na primeira camada de solvatação do oxigênio O7. A Figura 6.3.3a (sistema ME<sub>c</sub>) demonstra a presença de até dois átomos

de hidrogênio nesta região em alguns momentos da dinâmica. A presença do segundo átomo de hidrogênio no sítio do oxigênio O7 diminui o TMR deste átomo devido às muitas trocas que são contabilizadas neste sítio.

**Figura 19.** TMR para o átomo O7 com os hidrogênios do sistema (a) MEc e do sistema (b) ME d a 300K.



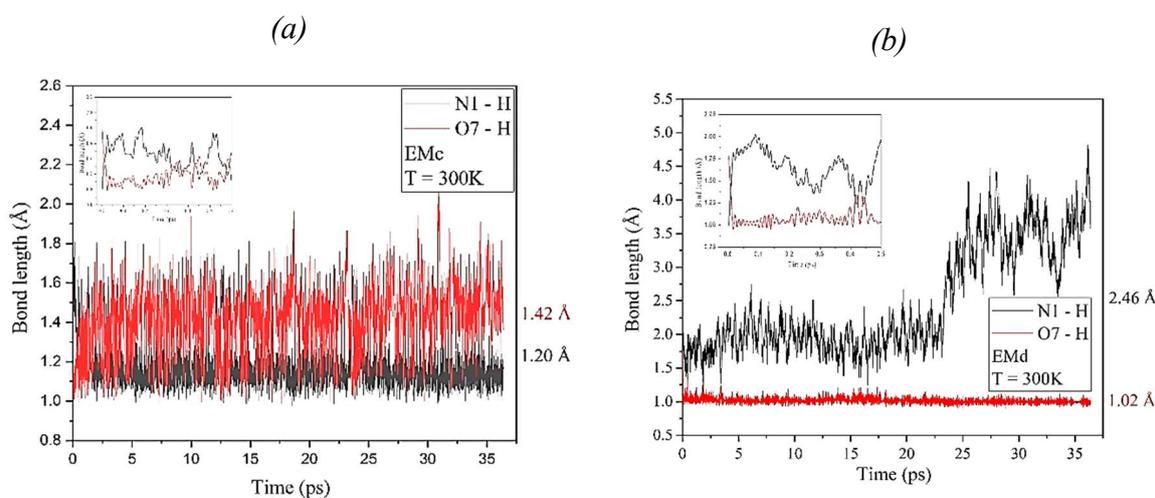
Visto que no sistema ME d o TMR é maior (12,4 ps) e a primeira camada de solvatação (entre 0.7 Å e 1.35 Å) está mais próxima do oxigênio O7, conclui-se que o hidrogênio descentralizado favorece o deslocamento de um hidrogênio do grupo amino (N1 do enalapril) para o O7 do maleato. Entretanto no sistema MEc, existe um TMR menor (1.0 ps) e uma primeira camada de solvatação (entre 0.8 Å e 1.85 Å) entre o oxigênio O7 e o hidrogênio do grupo amino. Este comportamento é consistente com o perfil de distâncias entre os átomos avaliados nesta interação, conforme demonstrado na Figura 6.3.4.

A Figura 6.3.4a (que faz um close no início da simulação) mostra que, no sistema MEc, a dinâmica começa com o hidrogênio mais próximo ao átomo N1 (linha preta), entretanto, este hidrogênio se aproxima rapidamente do átomo O7 (linha vermelha), se mantém ali durante os primeiros 0.6 ps da simulação e rapidamente se distancia novamente do O7, retornando para perto do N1 do enalapril. A partir deste momento, o hidrogênio é fixado entre os átomos N1 e O7, realizando algumas trocas, porém mantendo-se mais próximo do N1 (linha preta) durante quase todo o tempo de simulação. Esta preferência é validada pelo cálculo da distância média dos átomos durante a dinâmica, a qual é de 1.42 Å entre o O7 e o hidrogênio e de 1.20 Å entre o N1 e o hidrogênio.

A Figura 6.3.4b mostra que, para o sistema MED, existe inicialmente a mesma preferência de trocas observada no sistema MEc, mas rapidamente o hidrogênio se aproxima do oxigênio O7 (linha vermelha). A principal diferença entre os sistemas é o fato do hidrogênio se manter mais próximo ao O7 durante todo o tempo de simulação com uma distância média de 1.02 Å. Esta distância é característica de uma ligação covalente, portanto pode-se concluir que um dos átomos de hidrogênio é arrancado do grupo amino do enalapril (N1) pelo maleato, formando o ácido maleico. Assim, é observada uma transferência de carga do enalapril para o maleato no sistema MED.

Estes resultados indicam que o hidrogênio descentralizado na molécula de maleato (MED) favorece a decomposição estrutural do maleato de enalapril devido ao processo de transferência de carga, enquanto o hidrogênio centralizado (sistema MEc) favorece a estabilização do estado sólido maleato de enalapril, em função da mobilidade do próton entre as duas moléculas.

**Figura 20.** Evolução das distâncias entre os átomos N1-H e O7-H do (a) sistema MEc e do (b) sistema MED a 300 K



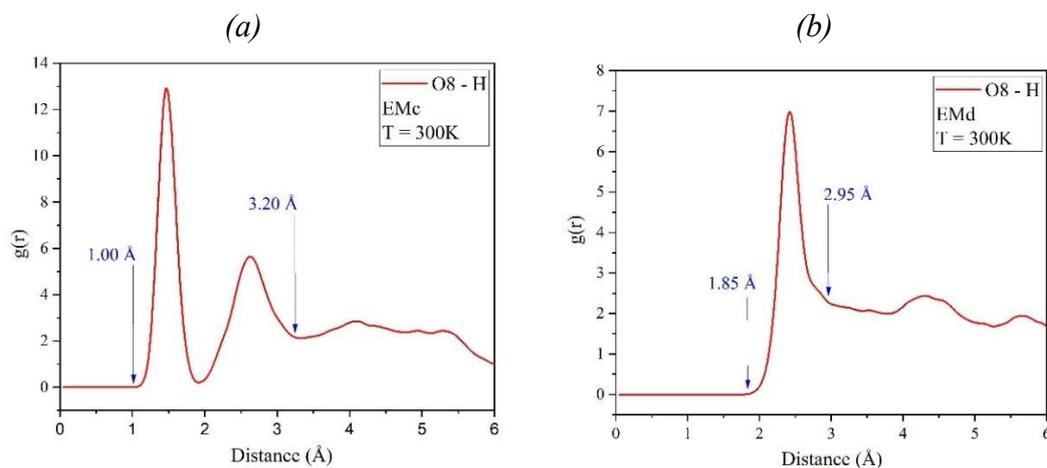
As outras interações significantes observadas nas análises de QTAIM foram aquelas mediadas pelo oxigênio O8. Para estes casos, foi realizada a avaliação da FDR  $g(r)$ , centrada no átomo O8 (Figura 6.3.5) com os hidrogênios do sistema.

A Figura 6.3.5a mostra uma primeira camada de solvatação bem definida entre 1.0 Å e 1.9 Å e uma segunda camada de solvatação bem definida entre 2.0 Å e 3.2 Å para o sistema MEc. O sistema MED também possui uma primeira camada de solvatação bem definida com um pico em  $g(r)$  entre 1.85 Å e 2.95 Å. A primeira camada de solvatação do sistema MEc é mais próxima ao átomo central e as interações são mais fortes, visto que se encontram dentro de uma faixa de distâncias

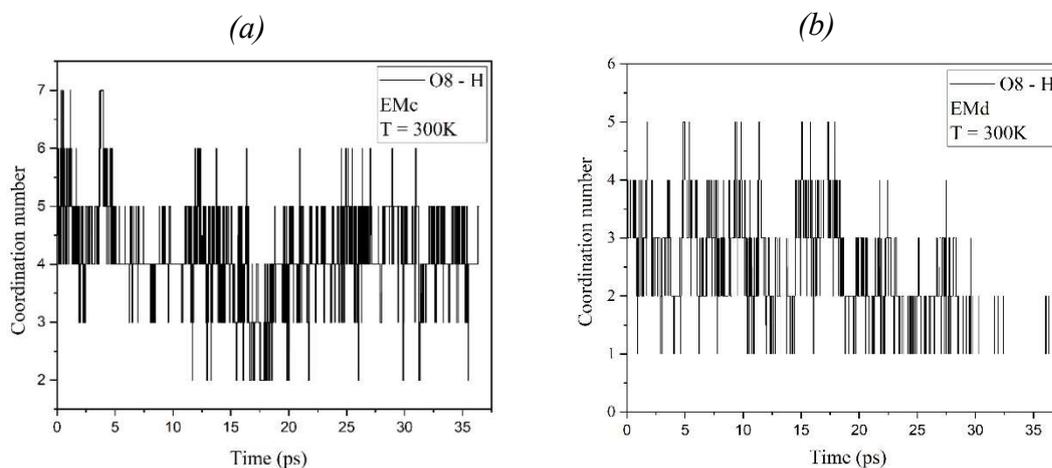
permitidas para ligações de hidrogênio moderadas (até 2.2 Å). Já o sistema MEd realiza interações fracas, visto que sua primeira camada de solvatação se inicia a 1.85 Å e vai até 2.95 Å.

O TMR apresentado na Figura 6.3.6 mostra quantas vezes os átomos entram e saem do sítio do oxigênio O8 em ambos os sistemas. A Figura 6.3.6a mostra até sete átomos de hidrogênio simultaneamente na primeira e segunda camadas de solvatação do oxigênio O8. A Figura 6.3.6b mostra até cinco átomos de hidrogênio simultaneamente na primeira camada de solvatação do átomo O8. Isto indica que em ambos os sistemas o oxigênio O8 é bem solvatado e reproduz a reatividade observada nas análises de QTAIM. A transferência de carga observada do átomo N1 para o átomo O7 e a distância do oxigênio O8 em relação aos hidrogênios do enalapril no sistema EMD indicam a formação do ácido maleico e o distanciamento do mesmo da molécula de enalapril durante a simulação da fase gasosa.

**Figura 21.** RDF centrado no átomo O8 com hidrogênios do sistema (a) MEc e (b) MEd a 300K



**Figura 22.** TMR para o átomo O8 com os hidrogênios do sistema (a) Mec e do sistema (b) MEd a 300K.



## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresentou uma avaliação do arranjo supramolecular do ME no estado sólido. As análises evidenciaram que em ambas as estruturas cristalinas, os cátions de enalapril presentes nas unidades assimétricas são ligados indiretamente uns aos outros através de ligações de hidrogênio envolvendo o mesmo ânion maleato. Adicionalmente, as regiões da molécula que exibem maior densidade eletrônica e indicam a ocorrência destas interações, também coincidem com os grupos funcionais que são mais propensos a sofrerem reações de degradação, o que explica o fato da estrutura cristalina do maleato de enalapril conferir maior estabilidade ao fármaco.

Finalmente, as análises de modelagem supramolecular e os cálculos de DMCP foram aplicados para avaliar a estrutura eletrônica do maleato enalapril e o processo de transferência do próton. Estas análises mostraram a transferência da carga do enalapril para o maleato assim como a mobilidade do próton ( $H^+$ ) entre as duas moléculas no estado cristalino. Observou-se boa concordância entre os resultados obtidos pela avaliação do QTAIM e da DMCP, uma vez que ambos os estudos reproduziram as principais interações entre enalapril e maleato. A interação que resulta na transferência de carga observada na dinâmica molecular ( $N1-H\cdots O7$ ) foi prevista no estudo do QTAIM nos quatro sistemas simulados. Estes achados podem auxiliar a preencher lacunas de informações que são fundamentais para o entendimento das propriedades físico-químicas e farmacocinéticas do maleato de enalapril.

## 9. REFERÊNCIAS

ALAVI, S. Ab Initio Molecular Dynamics. Basic Theory and Advanced Methods. Von Dominik Marx und Jürg Hutter. **Angewandte Chemie**, [s. l.], v. 121, n. 50, p. 9568–9569, 2009.

ALMEIDA, L. R.; SILVA, J. J.; DUARTE, V. S. Cristalografia: 100 Anos no Caminho da Inovação. **Revista Processos Químicos**, [s. l.], p. 75–86, 2014.

AL-OMARI, M. M.; ABDELAH, M. K.; BADWAN, A. A.; JABER, A. M. Y. Effect of the drug-matrix on the stability of enalapril maleate in tablet formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 25, p. 893–902, 2001. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/jpba](http://www.elsevier.com/locate/jpba).

ANVISA. RESOLUÇÃO - RDC Nº 318, DE 6 DE NOVEMBRO DE 2019. **DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, BRASIL**: 2019. Disponível em: [www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-318-de-6-de-novembro-de-2019-226513805](http://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-318-de-6-de-novembro-de-2019-226513805).

ANVISA. RESOLUÇÃO RDC Nº 73, DE 7 DE ABRIL DE 2016. **DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, BRASIL**: 2016.

ARAFAT, T.; AWAD, R.; HAMAD, M.; AZZAM, R. B.; AL-NASAN, A. B.; JEHANLIÀ, A.; MATALKA, K. **Pharmacokinetics and pharmacodynamics profiles of enalapril maleate in healthy volunteers following determination of enalapril and enalaprilat by two specific enzyme immunoassays**. [S. l.: s. n.], [s. d.].

ARAFAT, T.; AWAD, R.; HAMAD, M.; AZZAM, R. B.; AL-NASAN, A. B.; JEHANLIÀ, A.; MATALKA, K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics profiles of enalapril maleate in healthy volunteers following determination of enalapril and enalaprilat by two specific enzyme immunoassays. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, [s. l.], v. 30, p. 319–318, 2005.

ATKINS, P.; JONES, L.; LAVERMAN, L. **Chemical principles: the quest for insight**. 7. ed. [S. l.]: Bookman, 2018. 2018.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines**. 4. ed. [S. l.]: Elsevier, 2013. 2013.v. 1.

BADER, R. F. W. A Bond Path: A Universal Indicator of Bonded Interactions. **J. Phys. Chem. A**, [s. l.], v. 102, p. 7314–7323, 1998.

BAERTSCHI, S. W.; DILL, A. L.; KRAMER, T. T.; SCRIVENS, G.; SURUZHON, M. Degradation Rate Observations as a Function of Drug Load in Solid-State Drug Products. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 108, n. 5, p. 1746–1755, 2019.

BERNSTEIN, J. **Polymorphism in Molecular Crystals**. 2. ed. [S. l.]: Oxford University Press, 2020. 2020.

BERNSTEIN, J.; R, I. G.; CRUICKSHANK, D.; JURETSCHKE, H.; KATO, N.; SNYDER, R.; FIALA, J.; BUNGE, H. **Crystal Structure Analysis - A Primer**. New York: [s. n.], 2010.

BHARATE, S. S. Modulation of biopharmaceutical properties of drugs using sulfonate counterions: A critical analysis of FDA-approved pharmaceutical salts. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 66, p. 102913, 2021.

BLAKE, A. J.; CLEGG, W.; COLE, J. M.; EVANS, J. S. O.; MAIN PETER; PARSONS SIMON; WATKIN, D. J. **Crystal Structure Analysis - Principles and Parctice**. 2. ed. [S. l.: s. n.], 2009. 2009.

BORCHARDT-OTT, W. **Crystallography: an introduction**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. 2012. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-16452-1>.

BORNEMANN, F. A.; SCHÜTTE, C. A mathematical investigation of the Car-Parrinello method. **Numerische Mathematik**, [s. l.], v. 78, n. 3, p. 359–376, 1998.

BOUT, M. R.; VROMANS, H. Influence of commonly used excipients on the chemical degradation of enalapril maleate in its solid state: The role of condensed water. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 171, 2022a.

BOUT, M. R.; VROMANS, H. Influence of commonly used excipients on the chemical degradation of enalapril maleate in its solid state: The role of condensed water. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 171, 2022b.

BRAGG, W. H. The reflection of X-rays by crystals. (II.). **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character**, [s. l.], v. 89, n. 610, p. 246–248, 1913.

BRAGG, W.; BRAGG, L. The structure of some crystals as indicated by their diffraction of X-rays. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character**, [s. l.], v. 89, n. 610, p. 248–277, 1913.

BRUNO, I.; GRAŽULIS, S.; HELLIWELL, J. R.; KABEKKODU, S. N.; MCMAHON, B.; WESTBROOK, J. **Crystallography and databases**. [S. l.]: Ubiquity Press Ltd, 2017.

CAR, R.; PARRINELLO, M. Unified Approach for Molecular Dynamics and Density-Functional Theory. **Physical Review Letters**, [s. l.], v. 55, n. 22, p. 2471–2474, 1985.

COSTA, R. F.; AGUIAR, A. S. N.; BORGES, I. D.; TERNAVISK, R.; VALVERDE, C.; CAMARGO, A. J.; DELSON BRAZ, & NAPOLITANO, H. B.; OLIVEIRA, S. S. Effect of ortho- and para-chlorine substitution on hydroxychloroalcone. **Journal of Molecular Modeling**, [s. l.], v. 27, n. 65, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00894-021-04670-y>.

DAVIS, M. P.; MOHARA, M.; SHIMURA, K.; KORTER, T. M. Simulation and Assignment of the Terahertz Vibrational Spectra of Enalapril Maleate Cocrystal Polymorphs. **Journal of Physical Chemistry A**, [s. l.], v. 124, n. 47, p. 9793–9800, 2020.

DE SOUZA, S. M. M.; E MELO FRANCO, P. I. B.; LELES, M. I. G.; DA CONCEIÇÃO, E. C. Evaluation of thermal stability of enalapril maleate tablets using thermogravimetry and differential scanning calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 123, n. 3, p. 1943–1949, 2016.

DESIRAJU, G. R.; STEINER, T. The Weak Hydrogen Bond\_ In Structura. **International Union of Crystal**, [s. l.], v. 9, 2001.

DURLAK, P.; LATAJKA, Z. Car–Parrinello and path integral molecular dynamics study of the hydrogen bonds in 2-acetyl-1,8-dihydroxy-3,6-dimethylnaphthalene. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 499, n. 1–3, p. 56–61, 2010.

ESRAFILI, M. D. Investigation of H-bonding and halogen-bonding effects in dichloroacetic acid: DFT calculations of NQR parameters and QTAIM analysis. **Journal of Molecular Modeling**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 5005–5016, 2012.

EYJOLFSSON, R. **Concerning the stability of enalapril maleate form I and II in tablet formulations stabilized with sodium hydrogen carbonate**. [S. l.: s. n.], 2018.

FERNANDES, W. B.; NAPOLITANO, H. B.; NODA-PEREZ, C.; MARTINS, F. T.; LARIUCCI, C. Aplicações Tecnológicas da Metodologia Cristalográfica. **Revista Processos Químicos**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. 19–32, 2010.

- FRANK, I.; NADIMI, E. Ab-Initio Molecular Dynamics Simulation of the Electrolysis of Nucleobases. **Energies**, [s. l.], v. 14, n. 16, p. 5021, 2021.
- FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G. **Gaussian 09**. Versão Revisiion A.02. Wallingford: Gaussian Inc., 2016.
- GAO, Z.; MA, C.; LV, G.; LI, A.; LI, X.; LIU, X.; YANG, W. Car-Parrinello molecular dynamics study on the interaction between lignite and water molecules. **Fuel**, [s. l.], v. 258, p. 116189, 2019.
- GIACOVAZZO, C.; MONACO, H. L.; ARTIOLI, G.; VITERBO, D.; MILANESO, M.; FERRARIS, G.; GILLI, P.; GILLI, G.; ZANOTTI G.; CATTI, M. **Fundamentals of Crystallography**, 3rd edition. **IUCr Texts on Crystallography No. 15**, IUCr/Oxford University Press, 2011. Pp. xxi + 842. Price (hardback) GBP 90.00. ISBN 978-0-19-957365-3. [S. l.]: International Union of Crystallography (IUCr), 2011.v. 67.
- GOMEZ, H. J.; CIRILLO, V. J.; IRVIN, J. D. Enalapril. **Drugs**, [s. l.], v. 30, n. Supplement 1, p. 13–24, 1985.
- GRABOWSKI, S. J. **Hydrogen bonding : new insights**. [S. l.]: Springer, 2006. 2006.
- GU, L.; STRICKLEY, R. G. Diketopiperazine Formation, Hydrolysis, and Epimerization of the New Dipeptide Ang. **Pharmaceutical Research** , [s. l.], v. 4, p. 392–397, 1987.
- HEALY, A. M.; WORKU, Z. A.; KUMAR, D.; MADI, A. M. **Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals**. [S. l.]: Elsevier B.V., 2017.
- HOSSAIN, M. R.; HASAN, M. M.; NISHAT, M.; NOOR-E-ASHRAFI; AHMED, F.; FERDOUS, T.; HOSSAIN, M. A. DFT and QTAIM investigations of the adsorption of chlormethine anticancer drug on the exterior surface of pristine and transition metal functionalized boron nitride fullerene. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 323, 2021.
- HUTTER, J. Car-Parrinello molecular dynamics. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 604–612, 2012.
- IP ’, D. P.; BRENNER ’, G. S.; STEVENSON, J. M.; LINDENBAUM, S.; DOUGLAS, A. W.; KLEIN, S. D.; MCCAULEY, J. A. High resolution spectroscopic evidence and solution calorimetry studies on the polymorphs of enalapril maleate. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 28, p. 183–191, 1986.

- IP, D. P.; BRENNER, G. S. Enalapril Maleate. **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**, [s. l.], v. 16, n. C, p. 207–243, 1987a.
- IP, D. P.; BRENNER, G. S. Enalapril Maleate. **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**, [s. l.], v. 16, n. C, p. 207–243, 1987b.
- JEFFREY, G. A.; SAENGER, W. **Hydrogen Bonding in Biological Structures**. [S. l.]: Springer Berlin Heidelberg, 1991. 1991.
- KARLE, J.; HAUPTMAN, H. The Phases and Magnitudes of the Structure Factors\*. **Acta Cryst.** , [s. l.], v. 90, n. 2, p. 181–187, 1950.
- KIAKOJOURI, A.; NADIMI, E.; FRANK, I. Ab-Initio Molecular Dynamics Simulation of Condensed-Phase Reactivity: The Electrolysis of Amino Acids and Peptides. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 22, p. 5415, 2020.
- KIANG, Y.-H.; HUQ, A.; STEPHENS, P. W.; XU, W. **Structure Determination of Enalapril Maleate Form II from High-Resolution X-Ray Powder Diffraction Data** *J Pharm Sci.* [S. l.: s. n.], 2003a.
- KIANG, Y.-H.; HUQ, A.; STEPHENS, P. W.; XU, W. **Structure Determination of Enalapril Maleate Form II from High-Resolution X-Ray Powder Diffraction Data** *J Pharm Sci.* [S. l.: s. n.], 2003b.
- LADD, M.; PALMER, R. **Structure Determination by X-ray Crystallography Analysis by X-rays and Neutrons Fifth Edition**. [S. l.: s. n.], 2013.
- LAURENCE, B.; BRUCE, C.; BJÖRN, K. **Goodman & Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics**. 12. ed. New York: The McGraww-Hill Companies Inc., 2011. 2011.v. 1.
- LEE, D.; HEDIGER, S.; PAËPE, G. de. High-Field Solid-State NMR with Dynamic Nuclear Polarization. *Em: MODERN MAGNETIC RESONANCE*. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 1–17.
- LIN, S.-Y.; WANG, S.-L.; CHEN, T.-F.; HU, T.-C. **Intramolecular cyclization of diketopiperazine formation in solid-state enalapril maleate studied by thermal FT-IR microscopic system**. [S. l.: s. n.], 2002. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/ejphabio](http://www.elsevier.com/locate/ejphabio). .
- LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. **Journal of Computational Chemistry**, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 580–592, 2012.

- 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. **Mercury CSD 2.0 - New features for the visualization and investigation of crystal structures.** [S. l.: s. n.], 2008.
- MASSA, W. **Crystal Structure Determination.** 2. ed. [S. l.: s. n.], 2004. 2004.
- MATTA, C. F.; BOYD, R. J. **The Quantum Theory of Atoms in Molecules: From Solid State to DNA and Drug Design.** Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. 2007.
- NANAYAKKARA, S.; KRAKA, E. A new way of studying chemical reactions: A hand-in-hand URVA and QTAIM approach. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 21, n. 27, p. 15007–15018, 2019.
- NAPOLITANO, H.; CAMARGO, A.; MASCARENHAS, Y.; VENCATO, I.; LARIUCCI, C. Análise da difração dos Raios X. **Revista Processos Químicos**, [s. l.], p. 35–45, 2007.
- NEMATI-KANDE, E.; KARIMIAN, R.; GOODARZI, V.; GHAZIZADEH, E. Feasibility of pristine, Al-doped and Ga-doped Boron Nitride nanotubes for detecting SF<sub>4</sub> gas: A DFT, NBO and QTAIM investigation. **Applied Surface Science**, [s. l.], v. 510, 2020.
- NISHIO, M. **The CH/ $\pi$  hydrogen bond in chemistry. Conformation, supramolecules, optical resolution and interactions involving carbohydrates.** [S. l.: s. n.], 2011.
- O'MALLEY JR., J. M.; POISSANT, B. M.; DINGER, H. C. United States Court of Appeals for the Federal Circuit. p.1–37, 2005.
- PASTORE, G.; SMARGIASSI, E.; BUDA, F. Theory of *ab initio* molecular-dynamics calculations. **Physical Review A**, [s. l.], v. 44, n. 10, p. 6334–6347, 1991.
- PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. **Physical Review Letters**, [s. l.], v. 77, n. 18, p. 3865–3868, 1996.
- PLIEGO, J. R. Car-Parrinello molecular dynamics study of CuF, AgF, CuPF<sub>6</sub> and AgPF<sub>6</sub> in acetonitrile solvent and Cluster-Continuum calculation of the solvation free energy of Cu(I), Ag(I) and Li(I). **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 359, p. 119368, 2022.
- PRÉCIGOUX, G.; GEOFFRE, S.; LEROY, F. N-(1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinium-Hydrogen Maleate (1/1), Enalapril (MK-421). **Acta Crystallographica Section C**, [s. l.], v. C42, p. 1022–1024, 1986.

- RAUK, A. **Orbital interaction theory of organic chemistry**. [S. l.]: Wiley-Interscience, 2001. 2001.
- REZENDE, R. L. O.; SANTORO, M. I. R. M.; MATOS, J. R. Stability and compatibility study on enalapril maleate using thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 881–886, 2008.
- ROZAS, I.; ALKORTA, I.; ELGUERO, J. Behavior of ylides containing N, O, and C atoms as hydrogen bond acceptors. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 122, n. 45, p. 11154–11161, 2000.
- SCHWERMANN, C.; DOLTSINIS, N. L. Exciton transfer free energy from Car–Parrinello molecular dynamics. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 22, n. 19, p. 10526–10535, 2020.
- SHEKAARI, A.; JAFARI, M. Phase-transition behavior of  $(H_2O)_{n=1-4}$  few-body systems from Car–Parrinello molecular dynamics. **Phase Transitions**, [s. l.], v. 94, n. 12, p. 889–898, 2021.
- SHERMAN, B. C. **Stable Solid Formulation of Enalapril Salt and Process for Preparation Thereof**. US005573780A. Depósito: 1996. Concessão: 1996.
- SHRIVASTAV, G.; KHAN, T. S.; AGARWAL, M.; HAIDER, M. A. A Car–Parrinello Molecular Dynamics Simulation Study of the Retro Diels–Alder Reaction for Partially Saturated 2-Pyrones in Water. **The Journal of Physical Chemistry C**, [s. l.], v. 122, n. 22, p. 11599–11607, 2018.
- SMEETS, N. J. L.; SCHREUDER, M. F.; DALINGHAUS, M.; MALE, C.; LAGLER, F. B.; WALSH, J.; LAER, S.; DE WILDT, S. N. Pharmacology of enalapril in children: a review. **Drug Discovery Today**, [s. l.], v. 25, n. 11, p. 1957–1970, 2020.
- SPACKMAN, M. A.; JAYATILAKA, D. Hirshfeld surface analysis. **CrystEngComm**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 19–32, 2009.
- SPACKMAN, P. R.; TURNER, M. J.; MCKINNON, J. J.; WOLFF, S. K.; GRIMWOOD, D. J.; JAYATILAKA, D.; SPACKMAN, M. A. CrystalExplorer: A program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. **Journal of Applied Crystallography**, [s. l.], v. 54, p. 1006–1011, 2021.
- STANISZ, B. Evaluation of stability of enalapril maleate in solid phase. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 375–380, 2003.

STARE, J.; MAVRI, J.; GRDADOLNIK, J.; ZIDAR, J.; MAKSIC, Z. B.; VIANELLO, R. Hydrogen Bond Dynamics of Histamine Monocation in Aqueous Solution: Car–Parrinello Molecular Dynamics and Vibrational Spectroscopy Study. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 115, n. 19, p. 5999–6010, 2011.

STEINER, T. The Hydrogen Bond in Solid State. **Angew. Chem. Int.**, [s. l.], v. 41, p. 48–76, 2002.

STOUT, H.; JENSEN, L.; HITCHCOCK, P. B. **X-ray Structure Determination-A Practical Guide; by G.** [S. l.: s. n.], 1990.

SU, L.; WANG, L.; YUAN, X.; ZHU, J.; WU, C.; YUAN, H. Study on the stability and compatibility mechanism of enalapril maleate based on pKa and pH microenvironment. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 146, n. 5, p. 2161–2167, 2021a.

SU, L.; WANG, L.; YUAN, X.; ZHU, J.; WU, C.; YUAN, H. Study on the stability and compatibility mechanism of enalapril maleate based on pKa and pH microenvironment. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 146, n. 5, p. 2161–2167, 2021b.

SU, L.; WANG, L.; YUAN, X.; ZHU, J.; WU, C.; YUAN, H. Study on the stability and compatibility mechanism of enalapril maleate based on pKa and pH microenvironment. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 146, n. 5, p. 2161–2167, 2021c.

VERBEECK, R. K.; KANFER, I.; LÖBENBERG, R.; ABRAHAMSSON, B.; CRISTOFOLETTI, R.; GROOT, D. W.; LANGGUTH, P.; POLLI, J. E.; PARR, A.; SHAH, V. P.; MEHTA, M.; DRESSMAN, J. B. **Biowaiver Monographs for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Enalapril.** [S. l.]: Elsevier B.V., 2017.

WOOLFSON, M. M.; ROBINSON, I. An Introduction to X-Ray Crystallography . **Physics Today**, [s. l.], v. 50, n. 11, p. 70–74, 1997.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. **Journal of Chemical Physics**, [s. l.], v. 125, n. 19, 2006.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. **Theoretical Chemistry Accounts**, [s. l.], v. 120, n. 1–3, p. 215–241, 2008.

## 10. ANEXO

## 10.1 Anexo I – Publicação do Estudo

## Metadata of the article that will be visualized in OnlineFirst

ArticleTitle	Studies on charge transfer of enalapril maleate: from solid-state to molecular dynamics	
Article Sub-Title		
Article CopyRight	The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature (This will be the copyright line in the final PDF)	
Journal Name	Journal of Molecular Modeling	
Corresponding Author	FamilyName	<b>Napolitano</b>
	Particle	
	Given Name	<b>Hamilton B.</b>
	Suffix	
	Division	Grupo de Química Teórica E Estrutural de Anápolis
	Organization	Universidade Estadual de Goiás
	Address	Anápolis, GO, Brazil
	Division	Laboratório de Novos Materiais
	Organization	Universidade Evangélica de Goiás
	Address	Anápolis, GO, Brazil
	Phone	
	Fax	
	Email	hbnapolitano@gmail.com
	URL	
	ORCID	
Author	FamilyName	<b>Lourenço</b>
	Particle	
	Given Name	<b>Ana Carolina M.</b>
	Suffix	
	Division	Grupo de Química Teórica E Estrutural de Anápolis
	Organization	Universidade Estadual de Goiás
	Address	Anápolis, GO, Brazil
	Phone	
	Fax	
	Email	
	URL	
	ORCID	
Author	FamilyName	<b>Santin</b>
	Particle	
	Given Name	<b>Lauriane G.</b>
	Suffix	
	Division	Laboratório de Novos Materiais
	Organization	Universidade Evangélica de Goiás
	Address	Anápolis, GO, Brazil
	Phone	
	Fax	
	Email	
	URL	
	ORCID	
Author	FamilyName	<b>Fajemiroye</b>
	Particle	
	Given Name	<b>James O.</b>