UNIVERSITAT DE BARCELONA

Aplicacions de l'enginyeria cristal·lina al descobriment i estudi de noves formes sòlides de principis actius

Rafael Barbas Cañero

Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència ***Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons***.

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia ***Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative* Commons**.

This doctoral thesis is licensed under the ***Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License***.

UNIVERSITAT DE BARCELONA

Aplicacions de l'enginyeria cristal·lina al descobriment i estudi de noves formes sòlides de principis actius

Rafael Barbas Cañero

Barcelona, Setembre 2019

Unitat de Polimorfime i Calorimetria
Centres Científics i Tecnològics
Universitat de Barcelona
Programa de Doctorat en Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments

Aplicacions de l'enginyeria cristal·lina al descobriment i estudi de noves formes sòlides de principis actius

Memòria presenta per Rafael Barbas Cañero per optar al títol de doctor per la Universitat de Barcelona

Dr. Rafel Prohens López
Director

Rafael Barbas Cañero
Doctorand

Dra. Yolanda Cajal Visa
Tutora

Barcelona, Setembre 2019

A mis padres, Juan y Rosario.

Las grandes esperanzas

La cuestión se reduce a estar vivo un instante,
aunque sea un instante no más,
a estar vivo
justo en ese minuto
cuando nos escapamos
al mejor de los mundos imposibles.

Jaime Gil de Biedma

AGRAÏMENTS

Aquesta tesi doctoral és un punt i seguit a una etapa que vaig començar fa molts anys en la Unitat de Polimorfisme i Calorimetria. De fet, l'any 2003 vaig entrar per tres mesos i fixeu-vos on sóc. Ara quan miro enrere, em veig entrant per la porta del despatx –un pèl més jove- i amb la il·lusió d'iniciar la meva primera feina. Mai hagués pogut ni imaginar que arribaria fins aquí.

En primer lloc vull agrair al Rafel la confiança, incondicional i continuada, que ha dipositat en mi: per tots aquells moments en què m'has donat ànims i suport respecte a la meva situació laboral. Especialment per insistir (en nombroses ocasions) i convèncer-me que la realització d'una tesi doctoral és un procés d'aprenentatge continu i que, malgrat les decepcions, ajuda a desenvolupar-se personalment i professionalment. Gràcies a la teva inconformitat, per les hores dedicades i els esforços realitzats i per permetre'm formar part d'un grup que, encara que la nostra finalitat última no és la recerca, ens ha permès desenvolupar una carrera científica reconeguda internacionalment. Tot i que ningú ens ha dit com fer-ho, crec que ens n'estem sortint prou bé. T'agraeixo totes les converses, discussions i coneixements transmesos durant tot aquests anys, i en especial, durant aquesta última etapa, així com la teva subtil gota malaia necessària per fer-me canviar el punt de vista i convèncer-me per fer aquesta tesi doctoral.

Agraeixo a totes aquelles persones que d'alguna manera han col·laborat durant el decurs d'aquesta tesi, a les diferents Unitats dels Centres Científics i Tecnològics, pel seu suport durant la realització de certs experiments i en especial a la Mercè, per les discussions sobre les resolucions de les estructures. També vull agrair la col·laboració d'investigadors de diversos grups de recerca nacionals i internacionals que han participat en la publicació dels articles que conformen aquesta tesi doctoral: al Prof. Toni Frontera i l'Antonio Bauzá de la Universitat de les Illes Balears pels càlculs de DFT i per l'anàlisi i discussió de les estructures, al Prof. Chris Hunter de la Universitat de Cambridge, per permetre'ns emprar la seva metodologia virtual d'*screening* de cocristalls i per la seva anàlisi i discussió de resultats, i, finalment, al Prof. Anant Paradkar de la Universitat de Bradford per la realització de l'estudi comparatiu de velocitats de dissolució entre diferents formes sòlides. També a CIRCE, i especialment al Fernando, per la seva generositat a l'hora de poder incloure la patent dins del compendi final de publicacions que formen part de la tesi.

Vull recordar a les persones que han treballat amb mi al laboratori durant aquests anys: la Cristina i l'Anna, que han format part d'aquesta tesi, tot i que ja no són a la Unitat. Gràcies per les hores compartides al laboratori i les discussions dels projectes realitzats durant tots aquests anys. També vull tenir un record per a la Dafne i la Lídia que actualment formen part de la Unitat de Polimorfisme i Calorimetria. Agrair el seu esforç, organització i dedicació al laboratori i les ganes d'estudiar tot allò que estigui relacionat amb el món de l'estat sòlid. El seu interès incansable i la seva professionalitat m'han ajudat durant l'escriptura d'aquesta tesi.

Personalmente, quiero agradecer a mis amigos sus ánimos y por estar siempre y en todos los momentos difíciles ahí. Gracias por decidir compartir el camino conmigo. A mis padres y hermanos, por los valores transmitidos, por acompañarme y respetar todas las decisiones que he tomado a lo largo de la vida.

Finalment, a l'Estela, per ser part de la meva vida. Gràcies per animar-me a fer els estudis de doctorat, tot i l'esforç que suposava a nivell familiar. Gràcies per fer-me entendre que tot esforç té recompensa personal i professional. Als meus fills, Gerard i Aroa, per les hores que no us he pogut dedicar i que prometo compensar a partir d'ara. Us estimo a tots tres.

RESUM

Aquesta tesi descriu el disseny, optimització i implementació de metodologies d'*screening* versàtils per a la recerca de noves formes sòlides. La certesa d'estar desenvolupant la forma sòlida d'un principi actiu més adient per a ser formulada només es pot tenir quan es realitza un estudi complert de l'estat sòlid del compost. El coneixement de quines són les diferents formes sòlides en les que pot existir un compost, de les interaccions intermoleculars que estabilitzen les seves xarxes cristal·lines, així com la manera d'obtenir-les i la seva caracterització són els objectius de l'estudi de l'estat sòlid d'un compost. En aquest treball s'ha establert una metòdica de treball semi-automàtica de cerca de noves formes sòlides que és capaç d'adaptar-se a les demandes de la indústria farmacèutica i que a l'hora és modulable en el temps, en funció del progrés de l'estudi. El disseny i l'optimització de les metodologies d'*screening* s'han desenvolupat a partir de la combinació dels coneixements multidisciplinaris adquirits de diferents àrees com són els estudis d'estat sòlid, la cristal·lografia i l'enginyeria cristal·lina. L'aplicació i validació qualitativa de les metodologies s'ha realitzat a través de l'estudi de tres casos pràctics amb compostos amb interès farmacèutic. S'han descobert 48 noves fases cristal·lines: polimorfs, solvats, sals, híbrids i cocristalls dels tres principis actius estudiats i s'han resolt i analitzat 20 estructures cristal·lines. Per a l'anàlisi i caracterització dels diferents sòlids cristal·lins descoberts s'han utilitzat diferents tècniques experimentals com la calorimetria diferencial d'escaneig, la termogravimetria, l'espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear, la difracció de raigs X de pols i de monocristall, la sorció dinàmica de vapors i la termomicroscòpia. El gran nombre de formes sòlides descobertes dels tres principis actius ha permès aprofundir en l'estudi de diversos fenòmens de gran rellevància dins del camp de l'estat sòlid farmacèutic: la generació de formes sòlides a partir de la desolvatació de solvats que emmascaren la seva existència, el morfotropisme, la formació de compostos híbrids sal-cocristall, les interaccions intermoleculars anió-anió o la constatació que l'aparició de productes secundaris condicionen la recerca de noves formes sòlides.

Esta tesis describe el diseño, optimización e implementación de metodologías de *screening* versátiles para la búsqueda de nuevas formas sólidas de compuestos orgánicos. La certeza de estar desarrollando la forma sólida de un principio activo más adecuada para ser formulada sólo se puede tener cuando se realiza un estudio completo del estado sólido del compuesto. El conocimiento sobre cuáles son las diferentes formas sólidas en las que puede existir un compuesto, de las interacciones intermoleculares que estabilizan sus redes cristalinas, así como la manera de obtenerlas y su caracterización, son los objetivos del estudio de estado sólido del mismo. En este trabajo se ha establecido una metódica de trabajo semi-automática de búsqueda de nuevas formas sólidas que es capaz de adaptarse a las demandas de la industria farmacéutica y que a su vez es modulable en el tiempo, en función del progreso del estudio. El diseño y optimización de las metodologías de *screening* se han desarrollado a partir de la combinación de los conocimientos multidisciplinares adquiridos de diferentes áreas como son los estudios de estado sólido, la cristalografía y la ingeniería cristalina. La aplicación y verificación cualitativa de las metodologías se ha realizado a través del estudio de tres casos prácticos con compuestos de interés farmacéutico. Se han descubierto 48 nuevas fases cristalinas: polimorfos, solvatos, sales, híbridos y cocristales de los tres principios activos estudiados y se han resuelto y analizado 20 estructuras cristalinas. Para el análisis y caracterización de los diferentes sólidos cristalinos descubiertos se han utilizado diferentes técnicas experimentales como la calorimetría diferencial de barrido, termogravimetría, espectroscopía de resonancia magnética nuclear, difracción de rayos X de polvo y de monocristal, sorción dinámica de vapor y termomicroscopía. El gran número de formas sólidas descubiertas de los tres principios activos ha permitido profundizar en el estudio de diversos fenómenos de gran relevancia dentro del campo del estado sólido farmacéutico: la generación de formas sólidas a partir de la desolvatación de solvatos que enmascaran su existencia, el morfotropismo, la formación de compuestos híbridos sal-cocristal, las interacciones intermoleculares anión-anión o la constatación de que la aparición de productos secundarios condicionan la búsqueda de nuevas formas sólidas.

ÍNDEX GENERAL

Índex general

Resum ..... **xi**
Índex general ..... **xv**
Abreviacions ..... **xix**

Capítol 1. Introducció **1**
1.1 Formes de l'estat sòlid 6
1.1.1 Polimorfisme 6
1.1.2 Sòlids amorfs 10
1.1.3 Sistemes multicomponents 10
1.1.4 Pseudopolimorfisme: hidrats i solvats 11
1.1.5 Sals 12
1.1.6 Cocristalls 12
1.2 El fenomen de la cristal·lització: nucleació i creixement cristal·lí 19
1.3 Enginyeria cristal·lina i química supramolecular de l'estat sòlid 21
1.4 Tècniques experimentals d'*screening* de formes sòlides 26

Capítol 2. Objectius **33**

Capítol 3. Resultats **37**
3.1 Article 1 41
3.2 Article 2 51
3.3 Article 3 59
3.4 Article 4 71
3.5 Patent 77

Capítol 4. Discussió **81**
4.1 Disseny experimental 83
4.1.1 Estudi de polimorfisme 86
4.1.2 Estudi de cocristalls 88
4.2 Publicacions generades a partir de l'estudi de l'estat sòlid del principi actiu farmacèutic sildenafil 90
4.2.1 Article 1: *Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate* 90
4.2.2 Article 2: *Hydrogen bonding versus π-interactions: their key competition in sildenafil solvates* 94

4.2.3 Article 3: *Combined Virtual/Experimental Multicomponent Solid Forms Screening of Sildenafil: New Salts, Cocrystals and Hybrid Salt-Cocrystals* 96
4.3 Publicació generada a partir de l'estudi de l'estat sòlid del principi actiu farmacèutic citrat de fentanil 99
4.3.1 Article 4: *H-Bonded anion-anion complexes in fentanyl citrate polymorphs and solvates* 99
4.4 Patent generada a partir de l'estudi de l'estat sòlid del principi actiu nutracèutic beta-sitosterol 105
4.4.1 Patent: *Crystalline forms of Beta-Sitosterol* 105

Capítol 5. Conclusions **113**

Bibliografia **117**

Apèndix **131**
Apèndix A. Material suplementari Article 1 133
Apèndix B. Material suplementari Article 2 149
Apèndix C. Material suplementari Article 3 167
Apèndix D. Material suplementari Article 4 225
Apèndix E. Reivindicacions Patent 249
Apèndix F. Publicacions suplementàries 257
Apèndix G. Classificació dels dissolvents 261

ABREVIACIONS

A	Fase sòlida A
AB	Fase sòlida cocristall AB
B	Fase sòlida B
API	*Active Pharmaceutical Ingredient*
CIF	*Crystallographic Information File*
CCDC	*Cambridge Crystallographic Data Centre*
CSC	*Critical Stabilization Concentration*
CSD	*Cambridge Structural Database*
DSC	*Differential Scanning Calorimetry*
DVS	*Dynamic Vapor Sorption*
E	Energia
EAFUS	*Everything Added to Foods in the United States*
EMA	Agència Europea del Medicament
FDA	*Food and Drug Administration*
GMP	*Good Manufacturing Practice*
GRAS	*Generally Regarded as Safe*
HSM	*Hot-Stage Microscopy*
ICSC	*The International Chemical Safety Cards*
ILAG	*Ion-Liquid-Assisted Grinding*
INA	Isonicotinamida
K_a	Constant de dissociació àcida
K_{eu}	Constant del punt eutèctic
L	Fase líquida
LP	Parell solitari
LAG	*Liquid-Assisted Grinding*
MAK	*"Maximale Arbeitsplatz-Konzentration":* concentració màxima de dissolvent permesa present a l'aire dins d'una àrea de treball
NPX	*Naproxen*
NCI	*Non-covalent interactions*
PDA	*Permissible Daily Exposure*
pK_a	Mesura logarítmica de la constant de dissociació àcida
POLAG	*Polymer-Assisted Grinding*
PPM	Parts per milió
PM	Pes molecular
R+D+i	Recerca, desenvolupament i innovació
RMN	Ressonància Magnètica Nuclear
RMSD	*root-mean-square deviation*
R_{wp}	*The weighted powder profile R-factor*
SAF	*Substances Added to Food*
SCXRD	*Single Crystal X-Ray Diffraction*
SSIPs	*Surface Site Interaction Points*
T	Temperatura
T_f	Temperatura de fusió
$T_{f,E}$	Temperatura de punt de fusió de l'eutèctic
T_g	Temperatura de transició vítria
TGA	*Thermal Gravimetric Analysis*
T_{peb}	Temperatura de punt d'ebullició
T_{pf}	Temperatura de punt de fusió
VLA-ED	Valor Límit Ambiental-Exposició Diària
XRPD	*X-Ray Powder Diffraction*

χ_A	Fracció molar del compost A
γ_B	Fracció molar del compost B
Z_S	Fracció molar del dissolvent S

CAPÍTOL 1. INTRODUCCIÓ

L'estudi del comportament dels principis actius farmacèutics i nutracèutics en l'estat sòlid és de gran importància durant el desenvolupament d'un nou producte, ja que té una incidència directa en moltes de les seves propietats fisicoquímiques. L'estudi es pot dur a terme de forma paral·lela tant en la fase de descobriment de molècules potencialment actives [1] com en les etapes de desenvolupament d'un fàrmac: síntesi del principi actiu – etapa més adient per l'estudi –, disseny i desenvolupament de la seva formulació així com en la fabricació del medicament. [2] La presència de polimorfisme – existència de més d'una forma cristal·lina – en compostos farmacèutics és un fenomen molt comú, [3,4] la qual cosa té una important rellevància en la seva biodisponibilitat, fabricació, estabilitat així com en les propietats fisicoquímiques del principi actiu. Els costos derivats del desenvolupament d'un medicament – fase de descobriment, fase preclínica, fase clínica – són molt elevats [5] i l'aparició inesperada d'un nou polimorf que alteri les propietats de la forma desenvolupada, poden fer que s'hagi de tornar a formular un medicament que ja està sota comercialització. [6] L'obtenció d'aquesta nova forma pot dependre de diferents factors on la presència de fins a un 0.1% d'impureses en els lots de síntesi pot inhibir la cristal·lització de la forma més estable. [7] Una possible solució per evitar l'aparició inesperada d'un nou polimorf és realitzar un *screen* de polimorfisme partint del compost amb una elevada puresa i determinar aquelles condicions més favorables per obtenir una determinada forma, preferiblement la més estable termodinàmicament. Un coneixement *a priori* exhaustiu de les diferents formes sòlides –polimorfs, solvats i amorfs – és de vital importància per poder desenvolupar la forma més convenient i també per tenir controlades les implicacions en la propietat intel·lectual del principi actiu. [8, 9] Un augment de la solubilitat o de la velocitat de dissolució són exemples clars de propietats fisicoquímiques que es veuen afectades no només per la forma polimòrfica sinó també per la mida de partícula del sòlid. [10]

La singularitat de cada compost provoca que el nombre d'experiments que es poden realitzar en la recerca de noves formes sòlides sigui gairebé infinit, però la limitació pròpia del temps i dels recursos, fa necessari el disseny i el desenvolupament d'una sèrie de metodologies d'*screening* que siguin versàtils i eficients. Explorar quines condicions termodinàmiques i cinètiques de cristal·lització del compost són més adients per a l'obtenció de les diferents formes sòlides (allò que es coneix com a "*polymorph landscape*" o conjunt de formes sòlides d'un compost) [11] és un dels aspectes clau en el disseny experimental. La quantitat de variables que poden afectar l'obtenció d'una forma sòlida és molt elevada (el grau de puresa del lot de partida, la concentració, el dissolvent emprat, la temperatura, la pressió, tipus de recipient i de material emprat durant la cristal·lització, la cinètica de cristal·lització, la solubilitat, la velocitat d'agitació, entre d'altres) i fa que no sempre sigui possible descobrir les condicions òptimes per a l'obtenció d'una determinada forma sòlida, (Fig. 1.1).

En principi, amb uns recursos il·limitats tant materials com temporals, la probabilitat de trobar totes les formes sòlides d'un determinat compost és del 100%. Però, a efectes pràctics, el recursos estan limitats i per tant es fa necessari optimitzar-los.

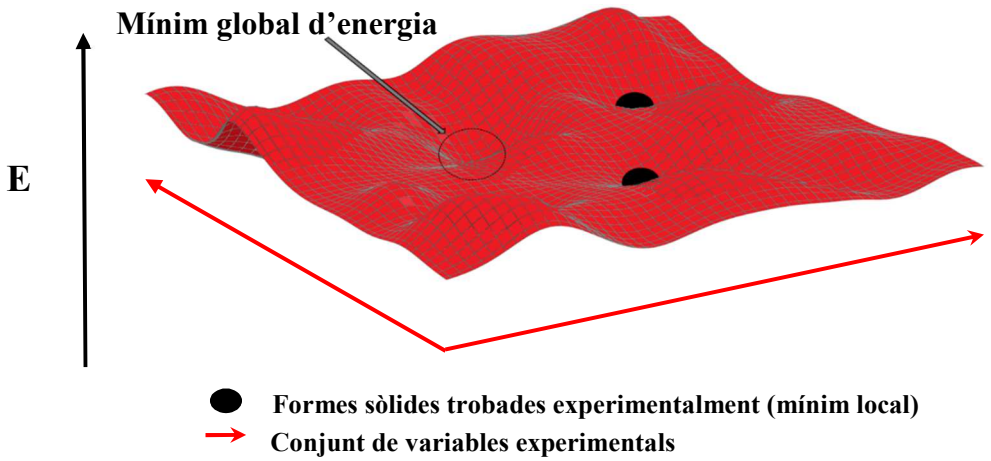
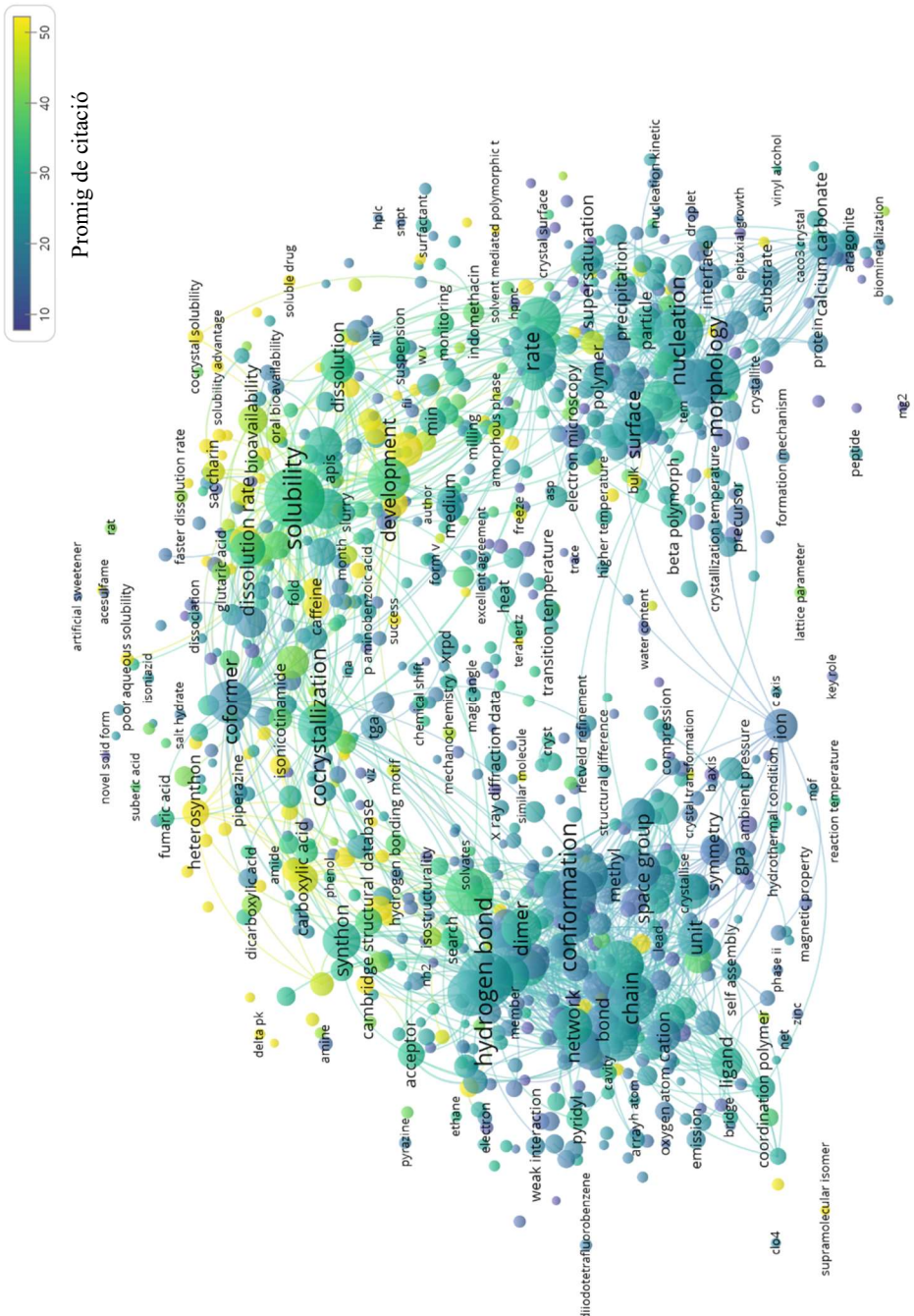


Fig. 1.1. Representació esquemàtica del "*polymorph landscape*": energia del sistema en funció d'un conjunt de variables experimentals

L'existència de solvats, sals o cocristalls d'un principi actiu alteren les propietats fisicoquímiques del compost sense afectar les seves propietats terapèutiques. L'augment de la velocitat de dissolució en funció del tipus de solvat [12] i l'increment de solubilitat en aigua degut a la formació d'una sal [13] o un cocristall [14] són bons exemples d'això. La cocristal·lització farmacèutica ha emergit en la passada dècada com una nova estratègia per millorar el subministrament de medicaments per via oral sense posar en compromís les seves propietats terapèutiques. La recerca de nous cocristalls farmacèutics s'ha incorporat recentment dins el desenvolupament de principis actius d'una manera semblant a l'estudi de les seves diferents formes sòlides (polimorfs i sals). Amb tot, el nombre de dissolvents o contraions farmacèuticament acceptables és limitat i la possibilitat d'emprar nous coformadors segurs – compostos inclosos a les llistes SAF (antigament EAFUS) i GRAS – obre una via en la recerca de noves formes. Durant l'estiu del 2016 la FDA [15] va introduir la possibilitat de considerar un nou cocristall farmacèutic dins la mateixa categoria que un nou polimorf del principi actiu: "*A cocrystal with a pharmaceutically acceptable coformer that meets the above conditions can be considered to be a pharmaceutical cocrystal and has a regulatory classification similar to that of a polymorph of the API*". Aquesta consideració va ser ratificada al febrer del 2018 [16] on a més s'obliga a presentar dades que evidenciïn la presència tant del principi actiu con del coformador dins de la xarxa cristal·lina.

A banda de la dificultat en la tria dels coformadors, actualment, els científics treballant en aquest camp es troben amb dificultats per saber quins procediments experimentals són els més adients per obtenir un cocristall, quins factors afecten de manera rellevant a la seva formació i quines propietats fisicoquímiques es poden veure afectades en major grau. Prova de l'interès que aquesta problemàtica suscita entre la comunitat científica és el gran nombre de publicacions generades. Una anàlisi de les paraules clau "*polymorph*" i "*cocrystal*" en les principals revistes científiques especialitzades dóna com a resultat 3222 articles fins a maig del 2019. La Figura 1.2 mostra com una sèrie de paraules clau de l'àmbit de l'estat sòlid es relacionen dins clústers en un mapa de bombolles la qual cosa reflexa tant la complexitat com la multidisciplinarietat d'aquest camp d'estudi.


Promig de citació
10
20
30
40
50
solubility
rate
dissolution
nucleation
morphology
surface
supersaturation
precipitation
crystallization
development
bioavailability
dissolution rate
cocrystal
coformer
hydrogen bond
conformation
network
dimer
chain
space group
synthon
heterosynthon
polymer
particle
interface
protein
calcium carbonate
crystal surface
electron microscopy
amorphous phase
transition temperature
beta polymorph
precursor
substrate
monitoring
milling
indomethacin
saccharin
caffeine
isonicotinamide
carboxylic acid
piperazine
fumaric acid
glutaric acid
salt hydrate
solubility advantage
cocrystal solubility
soluble drug
faster dissolution rate
oral bioavailability
suspension
surfactant
medium
slurry
author
freeze
heat
terahertz
excellent agreement
solvent mediated polymorphic t
nucleation kinetic
droplet
epitaxial growth
vinyl alcohol
caco3 crystal
aragonite
biomineralization
peptide
crystallite
formation mechanism
lattice parameter
higher temperature
water content
crystallization temperature
bulk
trace
asp
tem
hplc
smpt
wv
min
tom v
hsmc
mg2
artificial sweetener
acesulfame
rat
novel solid form
poor aqueous solubility
isoniazid
suberic acid
dissociation
success
p aminobenzoic acid
tga
viz
xrpd
chemical shift
mechanochemistry
magic angle
X ray diffraction data
similar molecule
cryst
structural difference
rietveld refinement
compression
crystal transformation
b axis
ambient pressure
hydrothermal condition
reaction temperature
mof
keyhole
c axis
crystallise
gpa
symmetry
unit
lead
methyl
space
phase ii
magnetic property
self assembly
ligand
coordination polymer
net
zinc
cu4
supramolecular isomer
oxygenation
emission
bridge
pyridyl
weak interaction
diiodotetrafluorobenzene
ethane
electron
pyrazine
acceptor
amine
delta pk
cambridge structural database
hydrogen bonding motif
isostructurality
search
solvates
phenol
amide
dicarboxylic acid
fold
caffeine
isonicotinamide
carboxylic acid
glutaric acid
saccharin
bioavailability
dissolution
apis
month
slurry
p aminobenzoic acid
success

Definir quines són les diferents formes sòlides en les que pot existir un compost, (Fig. 1.3) les interaccions intermoleculars que estabilitzen les seves xarxes cristal·lines, així com també la manera d'obtenir i caracteritzar els sòlids, són la base de l'estudi de l'estat sòlid d'un compost.

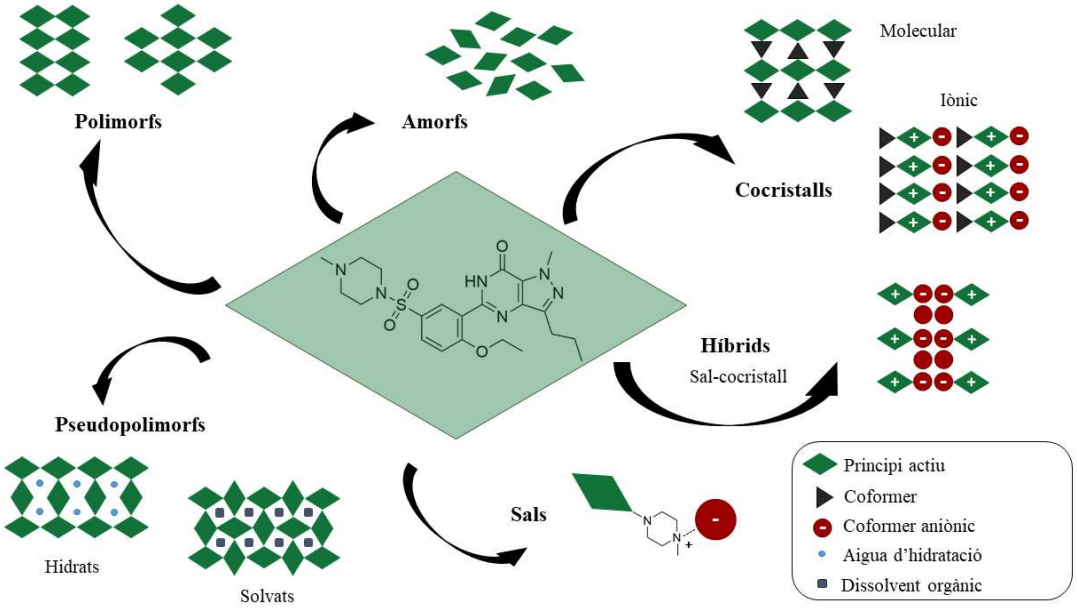


Fig. 1.3. Resum de les formes sòlides que formen part de l'estat sòlid (Adaptat de la referència [68])

1.1 Formes de l'estat sòlid

En aquesta secció revisaré les diferents formes sòlides que pot presentar un compost farmacèutic o nutracèutic.

1.1.1 Polimorfisme

L'habilitat d'un compost d'existir en dues o més formes cristal·lines s'anomena polimorfisme i es deu a diferències en el seu empaquetament cristal·lí i/o en la seva conformació molecular. El primer exemple publicat de polimorfisme d'un compost orgànic va ser la benzamida [17] a1 1832 i no va ser fins a finals dels anys 90 que no va adquirir un especial interès en la indústria farmacèutica a partir del primer cas d'impacte comercial i amb conseqüències per a la salut dels pacients amb el medicament de ritonavir. [18] L'aparició sobtada d'un nou polimorf més estable va provocar que s'hagués de tornar a desenvolupar un medicament que ja estava en el mercat. Identificar quants polimorfs existeixen i determinar la seva estabilitat relativa – enantiotropia o monotropia –, [19, 20] així com controlar, actualment de manera rutinària, les seves condicions d'obtenció i reproductibilitat [21] de cadascun d'ells, és essencial i forma part de l'estudi del comportament de l'estat sòlid dels principis actius farmacèutics i nutracèutics.

En principi, la potencial presència de polimorfisme en un compost és una qüestió que es troba sempre oberta. [22, 23] La realització d'estudis on es combinen càlculs computacionals per predir estructures termodinàmicament viables amb *screening* de

polimorfs és un bon exemple de recerca combinada teòrica/experimental de noves formes polimòrfiques. [24, 25] Propietats intrínseques de la molècula com el seu volum molecular, la seva flexibilitat, quantitat de grups funcionals, tendència a formar enllaços d'hidrogen o presència de quiralitat [26], poden influir en el polimorfisme del compost, on molècules petites, rígides, sense centres quirals i amb diversos grups funcionals, tendiran, estadísticament, a formar un major nombre de polimorfs [27].

La diferència d'energia reticular entre dos polimorfs normalment és de pocs kJ per mol [28, 29] per tant l'obtenció d'una forma estable o metastable depèn dels factors experimentals presents durant la seva cristal·lització. Existeixen medicaments on el principi actiu és una forma metastable o amorfa degut a que les seves propietats fisicoquímiques són més apropiades, tot i que s'assumeix el risc a que aparegui la forma més estable amb el temps. Algunes de les propietats fisicoquímiques que es poden veure afectades són: el punt de fusió, la higroscopicitat, la solubilitat, la velocitat de dissolució, l'estabilitat, la conductivitat tèrmica, la densitat, l'hàbit cristal·lí, l'activitat superficial i les propietats mecàniques i òptiques [30, 31].

A partir de dades i observacions experimentals s'han deduït diagrames d'energia/temperatura que han permès determinar una sèrie de "regles" que ajuden a caracteritzar, entendre i predir el comportament d'un sistema polimòrfic, (Fig. 1.4). La relació d'estabilitat que s'estableix entre dos polimorfs es pot definir com enantiotròpica o monotròpica, depenent de si una forma cristal·lina pot transformar-se de forma reversible en una altra o no. Per a aquells sistemes enantiotròpics, es possible definir una temperatura de transició reversible per sota de la temperatura de fusió, (Fig. 1.4a). En sistemes monotròpics no existeix cap transició reversible per sota del punt de fusió, (Fig. 1.4b). Aquesta regla s'anomena, regla de la calor de transició. Altres regles que es poden emprar són: la regla de la calor de fusió, la regla de l'infraroig i la regla de la densitat [19, 20, 32, 33].

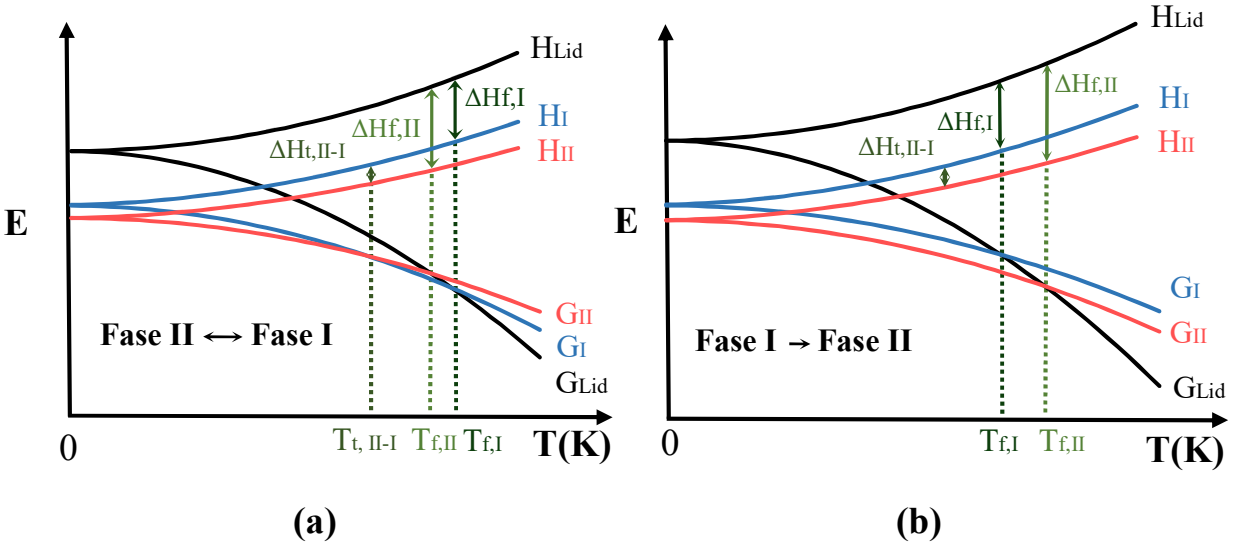


Fig. 1.4. Diagrames (E *vs* T) segons Burger i Ramberger: enantiotropia (a), monotropia (b)

En un sistema polimòrfic del tipus enantiotròpic és necessari definir la temperatura de transició a partir de la qual cada fase cristal·lina predominarà [33]. Controlar la temperatura d'emmagatzematge i distribució del medicament evitarà una possible transformació sòlid – sòlid entre polimorfs, és a dir, un reordenament de l'estructura cristal·lina. Byrn *et al.* [34], va proposar un mecanisme de quatre etapes que pretén explicar aquesta transició: (i) relaxació molecular de la fase inicial; (ii) formació d'un intermedi sòlid – dissolució; (iii) nucleació de la nova fase sòlida; (iv) creixement de la nova fase. Un exemple de transició sòlid – sòlid es descriu en la molècula de dibenzilesquaramida on la forma B es transforma en la forma A de manera reversible, (Fig. 1.5). [35]

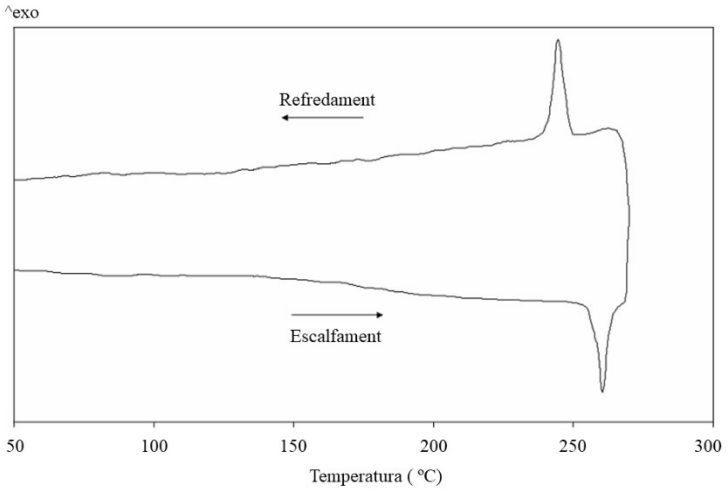


Fig. 1.5. Termograma de DSC que mostra la reversibilitat de la transició sòlid-sòlid d'un polimorf de dibenzilesquaramida (Adaptat de la referència [35])

Una metodologia emprada de forma majoritària en el procés d'obtenció de formes polimòrfiques pures és mitjançant la transformació a partir d'una suspensió (*solvent-mediated transformation*). Aquesta metodologia fa servir un dissolvent com a mitjà per obtenir lots d'un determinat polimorf de forma molt eficient a través d'un procés de dissolució i recristal·lització. Es pot considerar com una de les etapes finals del procés de síntesi d'un compost en la qual es vol obtenir un determinat polimorf pur. Es poden plantejar dos escenaris de treball segons sigui la relació d'estabilitat relativa:

- Per a un sistema monotròpic, l'obtenció del polimorf més estable es realitza a través de la sembra d'aquest en una solució saturada que indueixi a la cristal·lització.
- Per a un sistema enantiotròpic, la preparació d'una suspensió d'una mescla polimòrfica a una temperatura per sota o per sobre de la temperatura de transició, permetrà obtenir la forma estable a aquella temperatura.

Aquest comportament entre polimorfs està perfectament descrit per a sistemes amb una mida de partícula de l'ordre de mil·límetres que és majoritari durant el procés d'escalat. La utilització d'altres metodologies on es redueix la mida de partícula (*grinding* o *liquid-assisted grinding*) a escala nanomètrica, pot provocar un canvi d'estabilitat relativa entre polimorfs degut a que els fenòmens d'interacció superficial cristall – solvent prenen importància i poden revertir l'estabilitat relativa respecte a la d'un cristall de major mida. [36, 37]

La determinació de l'estructura cristal·lina d'un compost i identificació de les diferències estructurals entre les seves xarxes és una altra manera d'estudiar el seu polimorfime. Hi ha dos tipus de polimorfisme segons si les diferències entre les estructures cristal·lines dels polimorfs venen determinades per l'empaquetament o per la conformació de la molècula. En primer terme es parla de polimorfisme d'empaquetament (*packing polymorphism*), que és aquell en el qual les molècules dels polimorfs comparteixen la mateixa conformació molecular però s'empaqueten de diferent manera en l'espai tridimensional. Fenòmens relacionats amb l'empaquetament són el morfotropisme, la isoestructuralitat o el polimorfisme quasi-isoestructural. Un fenomen molt poc freqüent però present en molècules semirígides és el morfotropisme que es pot definir com el vincle entre la isoestructuralitat i el polimorfisme [38, 39]. Es diu que dos polimorfs es relacionen morfotròpicament quan les seves estructures cristal·lines es poden interconvertir mitjançant transformacions (rotacions/translacions/plans/eixos) no cristal·logràfiques. [40] El fenomen de la isoestructutalitat pren com a referència la similitud entre xarxes cristal·lines de compostos diferents [41] o entre polimorfs [42] i el concepte de polimorfisme quasi-isoestructural emprat per Dey *et al.* [43] per a descriure aquells compostos que presenten polimorfs amb una elevada Z' (nombre de molècules a la unitat asimètrica) mostrant un empaquetament molt similar amb unes dimensions de cel·la diferents.

En segon terme es parla de polimorfisme conformacional per a aquells compostos que presenten una flexibilitat molecular. L'existència de forces intermoleculars com l'enllaç d'hidrogen, van der Waals, dipol-dipol, iòniques, etc, determinen l'energia del cristall i fan difícil predir quina conformació és més probable. Aquelles conformacions que cristal·litzen seran les que energèticament siguin favorables minimitzant l'energia lliure del sistema. Establir si dos polimorfs es relacionen segons un fenomen de polimorfisme conformacional es basa en distingir si entre ells es produeix un canvi de conformació (corresponent a dos mínims d'energia en fase gas) o un ajust conformacional (corresponent al mateix mínim d'energia en fase gas). L'estudi de les estructures cristal·lines dels diferents sistemes polimòrfics dipositades en la CSD, [44] ha permès determinar uns límits a partir dels quals es considera que hi ha un canvi conformacional, donant lloc a polimorfisme conformacional. Principalment la identificació d'aquest canvi conformacional vindrà definit a través del càlcul dels següents límits:

- Límit rmsd[r]: valor que s'obté a partir de les diferències observades entre les posicions atòmiques de cadascuna de les estructures cristal·lines dels diferents polimorfs. Es considera que es relacionen a través d'un canvi conformacional amb un valor de rmsd per sobre de 0.375 Å. Per sota d'aquest valor es considera que es relacionen segons un ajust conformacional.

- Límit de la variació de l'angle de torsió màxima ($(\Delta\theta)_{max}$) entre els enllaços flexibles:

    - Quan $(\Delta\theta)_{max} < 25$ º, el polimorfs es relacionen segons un ajust conformacional.
    - Quan $25 º \leq (\Delta\theta)_{max} < 45$ º, majoritàriament es relacionen segons un ajust conformacional.
    - Quan $45 º \leq (\Delta\theta)_{max} < 95$ º, els enllaços flexibles s'han d'analitzar individualment.
    - Quan $(\Delta\theta)_{max} \geq 95$ º, es relacionen a través d'un canvi conformacional.

1.1.2 Sòlids amorfs

L'absència d'ordre cristal·lí a llarga distància és la característica principal de les formes sòlides amorfes. Aquest desordre aporta unes propietats fisicoquímiques molt diferents respecte a les de la forma cristal·lina. [45] La millora de la seva solubilitat respecte al sòlid cristal·lí pot ser emprada per a formulacions alternatives a formulacions cristal·lines. Els processos industrials més emprats en la preparació de materials amorfs són *spray–drying*, *freeze–drying* i *melt extrusion*. Altres metodologies emprades són: *quenching from the melt*, evaporació ràpida del dissolvent d'una dissolució, precipitació per ràpida addició d'antisolvent, desolvatació o *grinding*. Els sòlids amorfs generalment presenten una transició vítria (*glass transition*) de segon ordre amb un canvi de capacitat calorífica i una temperatura de transició (T_g) per sobre de la qual el sòlid es troba en una estat vidriós. [46]

La major mobilitat molecular que presenten els sòlids amorfs provoca que les seves propietats fisicoquímiques poden ser alterades durant el processament del sòlid i depenent de la durada i el tipus d'emmagatzematge. El fet de que aquesta forma metastable tendeixi a cristal·litzar té importants conseqüències en el desenvolupament del principi actiu i provoca que la seva comercialització sigui minoritària. Tanmateix, el sòlid pot ser subministrat en forma de comprimits o suspensions on la presència d'excipients i additius ajuden a estabilitzar el sòlid amorf inhibint la seva cristal·lització. [47] Recentment, s'ha estudiat la possibilitat de formular sòlids coamorfs introduint un segon compost en la xarxa amorfa per mirar d'augmentar la seva biodisponibilitat i estabilitat. [48]

El terme poliamorfisme [49] va ser introduït per descriure el diferent comportament d'un determinat estat amorf degut a la seva forma d'obtenció, ja sigui emprant diferents temps de templat o diferents vies de precipitació. Aquest diferent comportament es troba relacionat amb la seva espontània relaxació estructural i es mesura a través del temps que dura la mobilitat en el material. [47]

1.1.3 Sistemes multicomponents

Els cristalls multicomponents es defineixen com a sòlids que contenen dos o més molècules diferents dins de la seva xarxa cristal·lina, ja sigui en forma neutra o carregada. [50] La formació de cristalls multicomponents ve determinada per les interaccions que es produeixen entre les diferents molècules o ions que donen lloc a la formació del cristall. Entendre quines combinacions són possibles influeix en el disseny de noves estratègies enfocades al descobriment de noves formes i permet una millor caracterització. De Gelder *et al.* [51] van definir una sèrie de regles que permeten la classificació dels sistemes multicomponents en set subclasses a partir dels components presents en el cristall i en base a les estructures cristal·lines dipositades en la CSD, (Fig. 1.6).

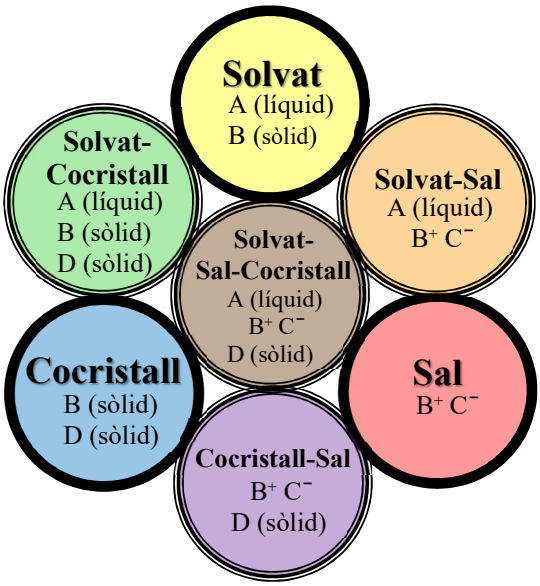


Fig. 1.6. Proposta de classificació dels sistemes multicomponents segons de Gelder *et al.* (Adaptat de la referència [51])

1.1.4 Pseudopolimorfisme: hidrats i solvats

Es defineix el pseudomorfisme com l'habilitat d'una substància de formar diferents formes cristal·lines diferint en la seva composició elemental a través de la inclusió de molècules de dissolvent. [52] La formació d'hidrats i solvats per part d'un compost pot afectar la seva estabilitat i solubilitat en relació amb la forma anhidra. [53] Identificar quins hidrats i solvats són termodinàmicament més estables i definir quines condicions de temperatura, humitat relativa o activitat de l'aigua afavoreixen la seva formació són essencials durant el desenvolupament del fàrmac. La tendència d'un compost a formar hidrats i solvats ve determinada entre d'altres per l'estructura de la molècula i la capacitat formadora d'enllaços d'hidrogen. [54, 55] Aquests compostos poden ser presents tant en forma estequiomètrica (estequiometria definida) com no estequiomètrica (estequiometria variable). [56]

La formació d'hidrats ve determinada per l'activitat de l'aigua en el medi de cristal·lització. [57] En funció del contingut d'aigua present en l'estructura cristal·lina els hidrats es poden classificar en tres categories: [58]

- Classe 1: l'espai cristal·logràfic que ocupa cada molècula d'aigua es troba ben definit i aïllat i té un contacte directe amb el compost i no amb altres molècules d'aigua. Els hidrats d'aquesta categoria sovint són estequiomètrics, [53] és a dir, amb un contingut d'aigua ben definit.
- Classe 2: l'espai cristal·logràfic que ocupa cada molècula d'aigua es troba dins d'un canal. Si el canal es troba situat dins d'un eix en la xarxa cristal·lina es parla d'hidrats amb canals d'expansió i si es troben dins d'un pla es parla d'hidrats planars. Els hidrats d'aquesta categoria generalment són hidrats no estequiomètrics [59] és a dir, la relació de l'aigua respecte al compost va variant contínuament sense alterar aparentment la seva estructura cristal·lina.
- Classe 3: són aquells hidrats on les molècules d'aigua es troben coordinades a

ions. Els hidrats d'aquesta categoria poden ser hidrats estequiomètrics o no estequiomètrics.

Una altra manera de classificar els hidrats és en funció dels clústers que es formen a partir de les interaccions aigua-aigua dins de les xarxes cristal·lines. [60, 61]

La formació de solvats pot tenir importants conseqüències en el desenvolupament del principi actiu ja que durant les etapes de síntesi i purificació aquest es troba en contacte amb dissolvents orgànics. D'altra banda, també es poden descobrir nous solvats durant l'estudi de l'estat sòlid d'un compost. [62]

Eliminar les molècules de dissolvent d'un solvat pot produir el col·lapse de l'estructura cristal·lina que dóna lloc a la formació de sòlids amorfs o d'altres polimorfs. Es parla de desolvats isomòrfics quan l'eliminació del dissolvent no provoca un col·lapse estructural i la nova forma anhidre manté un empaquetament similar al del solvat. [63]

1.1.5 Sals

En la recerca de noves formes sòlides d'un compost el desenvolupament d'un medicament en forma de sal és habitual, al voltant del 50% dels medicaments es comercialitzen per aquesta via. Un compost iònic presenta, *a priori*, una major solubilitat en aigua i biodisponibilitat en relació a la forma neutra. La principal interacció entre el principi actiu i el contraió és de tipus iònica on la presència de grups ionitzables en ambdós compostos regirà la formació de la sal. El principal requisit del contraió és que no sigui tòxic, és a dir, farmacèuticament acceptable i preferiblement de la classe I – sals de tipus clorhidrat o sòdica – dins de les tres categories en que s'engloben els compostos formadors de sals. [64] La formació de la sal requereix la presència de grups funcionals ionitzables i una de les metòdiques de preparació més habitual és a través de reaccions àcid/base entre els dos compostos. [65] Els compostos iònics, en estar carregats, tendeixen a interaccionar fortament amb molècules polars, especialment amb aigua, on la formació de sals afavoreix la higroscopicitat del producte. El criteri final de selecció és però aquell que s'ajusti millor a les necessitats del nou compost respecte a la millora de les seves propietats i estabilitat en relació als excipients emprats en la seva formulació i emmagatzematge. [66, 67]

1.1.6 Cocristalls

El camp de la cocristal·lització farmacèutica ha emergit en els darrers anys [68] com una nova eina per millorar les propietats d'aquells compostos que presenten una baixa solubilitat o pobre permeabilitat. L'augment de la biodisponibilitat [69] del principi actiu en ser subministrat en forma de cocristall no altera l'efecte terapèutic intrínsec de la pròpia molècula tal i com la FDA ha reconegut recentment. [16] A nivell europeu, l'Agència Europea del Medicament (EMA) va determinar que un nou cocristall es pot considerar de la mateixa manera que un principi actiu en solitari llevat que presenti unes propietats farmacocinètiques diferents i aleshores ha de ser considerat una nova entitat química patentable. [70] Aquestes consideracions obren noves vies per reformular principis actius que ja estan en el mercat o nous medicaments que es troben en vies de desenvolupament en forma de cocristalls, tant per part de les companyies farmacèutiques

innovadores com de les productores de genèrics. En aquest sentit, Zaworotko *et al.* [68] van publicar una recopilació dels cocristalls que ja s'estan comercialitzant: Beta-Chlor® (1963), Depakote® (1983), Cafcit® (1999), Lexapro® (2002), Suglat® (2014), Entresto® (2015), Odomzo® (2015) i Steglatro® (2017) i d'altres cocristalls que estan en fase de proves clíniques.

Els cocristalls farmacèutics són noves entitats cristal·lines [71] formades per dues o més molècules i/o compostos iònics, sent una d'elles un principi actiu farmacèutic i l'altra una molècula anomenada "*cocrystal former*" (coformador). De manera individual tant l'API com el coformador són sòlids en condicions ambientals i les interaccions que s'estableixen dins del cristall són de tipus no covalent, majoritàriament a través d'enllaços d'hidrogen, forces de van der Waals o interaccions aromàtiques.

L'aspecte decisiu en la recerca de nous cocristalls és l'elecció dels coformadors que potencialment han d'interaccionar amb el principi actiu. Compostos farmacèuticament acceptables, [72, 73] de pes molecular baix, amb diversos grups funcionals i una elevada tendència a formar interaccions intermoleculars fortes són bons candidats *a priori*. En aquest sentit, la versatilitat i variabilitat de sistemes químics i les seves interaccions és la base del que s'anomena *Enginyeria Cristal·lina*. Aquest concepte introduït l'any 1989 per Desiraju [74] es defineix com l'estudi de les interaccions intermoleculars dins de la xarxa cristal·lina i el seu aprofitament en el disseny de nous materials cristal·lins. Així doncs, entendre la química supramolecular dels grups funcionals presents en el principi actiu és clau a l'hora d'escollir els coformadors. En aquest sentit, l'anàlisi de les estructures dipositades a la CSD permet entendre el comportament dels diferents sintons supramoleculars en l'estat cristal·lí i predir, en certa manera, la possible interacció intermolecular en la formació del cocristall. Reconeixent la relació conceptual entre l'enginyeria cristal·lina i la síntesi orgànica, Desiraju [75] va definir els sintons supramoleculars com unitats estructurals que poden ser formades i/o acoblades a través d'interaccions intermoleculars conegudes o concebibles.

En paral·lel s'han desenvolupat tècniques computacionals [76] que permeten predir en base a càlculs teòrics quins són els millors coformadors per a una molècula determinada que combinats amb estudis experimentals han donat lloc al descobriment de nous cocristalls. [1, 77-79] Actualment, la idea de crear nous materials en base als coneixements adquirits per mitjà de l'enginyeria cristal·lina i fent servir la cocristal·lització com a via d'obtenció ha despertat un gran interès a nivell acadèmic i industrial. [80]

Els cocristalls principalment es classifiquen en dos grups: en primer terme es parla de cocristalls moleculars que són aquells on ambdues molècules es troben en forma neutra i en segon terme, es parla de cocristalls iònics on la presència d'un catió, d'un anió i d'una molècula neutra formen part del cristall. Els sòlids que formen part d'aquest segon grup s'obtenen a partir de tres premisses, (Fig. 1.7):

- El principi actiu de partida és una molècula neutra en forma de zwitterió o de sal i es vol cocristal·lizar amb un coformador neutre. [81]
- El principi actiu de partida és una molècula neutra i es vol cocristal·litzar amb una sal inorgànica. [80, 82, 83]
- El principi actiu és una molècula neutra amb grups funcionals ionitzables i es vol cocristal·litzar amb un coformador que també conté grups ionitzables. Dins

d'aquest grup es troben una sèrie de compostos molt poc freqüents que s'anomenen híbrids sal-cocristall. [84] Són formes cristal·lines on la formació de la sal i el cocristall és simultània i acostumen a cristal·litzar amb una estequiometria inesperada degut a que la segona molècula actua simultàniament com a contraió i coformador.

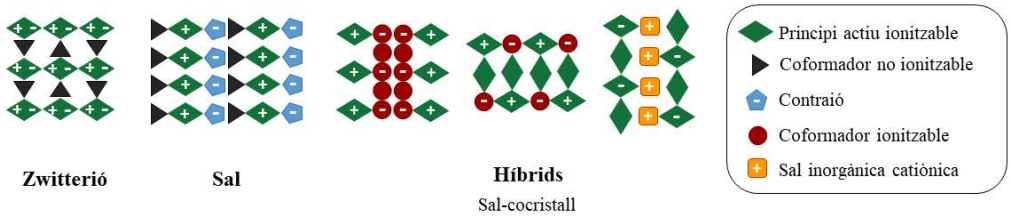


Fig. 1.7. Representació esquemàtica dels cocristalls iònics en funció del principi actiu

Predir si es produeix una transferència de protó en complexes àcid-base amb valors de pK_a similars serà decisiu per dissenyar la formació d'una sal o d'un cocristall entre aquest tipus de compostos. [85] Es considera que el protó d'un àcid es transfereix de forma complerta a una base protonable quan ΔpK_a [pK_a(base) – pK_a(àcid)] ≥ 3. Aquesta regla del pK_a ["*rule of thumb*"][64] permet seleccionar quins àcids o bases formaran un compost iònic. Anàlogament, s'espera la formació d'un cocristall amb valors de $\Delta pK_a \leq 0$ sent menys fiable la predicció en la regió anomenada "salt-cocrystal continuum" amb valors entre $0 \leq \Delta pK_a \leq 3$ on la formació d'una sal o d'un cocristall ve afectada per factors com la temperatura, la pressió o la pròpia estructura cristal·lina del compost. [86, 87] A partir de l'anàlisi estadístic de les estructures cristal·lines de compostos àcid-base dipositades a la CCDC, [88] Cruz-Cabeza va determinar de forma empírica la probabilitat (P) de transferència d'un protó en la regió $-1 \leq \Delta pK_a \leq 4$ a partir de la següent Equació 1.1:

$$P(\%) = 17\ \Delta pK_a + 28 \qquad (1.1)$$

Malgrat que aquesta probabilitat es basa en resultats experimentals, existeixen algunes excepcions com per exemple en el sistema àcid fòrmic-piridina, on a través de càlculs computacionals es demostra que la transferència o no del protó depèn de la relació molar d'àcid fòrmic present en el cristall. [89]

Un cop seleccionats els coformadors que, *a priori*, interaccionaran millor amb el principi actiu, s'han de determinar quines condicions experimentals són més favorables per a l'obtenció del nou cocristall. Avaluar si és necessària la presència o no de dissolvent en la formació de la nova fase serà la base del disseny experimental. Tot i que hi ha condicions en les que la presència de solvent és prescindible, la majoria de processos industrials trien aquest medi durant el desenvolupament i escalat del compost. Una manera de visualitzar la relació termodinàmica que s'estableix entre un cocristall i els seus components individuals (principi actiu i coformador) es troba representada a través de diagrames de fases. [90] A través de la representació del diagrama de fase binari – principi actiu/coformador – podem descriure tres situacions, (Fig. 1.8):

- La formació d'un cocristall (Fig. 1.8a) [91]: representació de la fracció molar del compost A amb la temperatura (T) i de les diferents fases que s'observen durant la formació d'un cocristall (A, B i AB). Els punts eutèctics que s'estableixen entre el compost B i el cocristall AB ($T_{f,E1}$) i entre el compost A i el cocristall AB ($T_{f,E2}$) i així com les fusions: $T_{f,E1}$ - $T_{f,E2}$ - $T_{f,B}$ - $T_{f,AB}$ - $T_{f,A}$, respectivament.
- La formació d'un eutèctic (Fig. 1.8b) [92]: representació de la fracció molar del compost A respecte a la temperatura (T) i la formació de la mescla homogènia entre els compostos A i B formant un eutèctic amb un punt de fusió més baix ($T_{f,E}$) respecte al dels compostos purs ($T_{f,B}$ i $T_{f,A}$).
- La formació d'una solució sòlida (Fig. 1.8c) [93, 94]: representació de la fracció molar del compost A respecte a la temperatura (T). La solució sòlida es forma entre els compostos A i B a qualsevol relació molar. Es formaran entre aquells compostos que presentin estructures similars (isoestructurals).

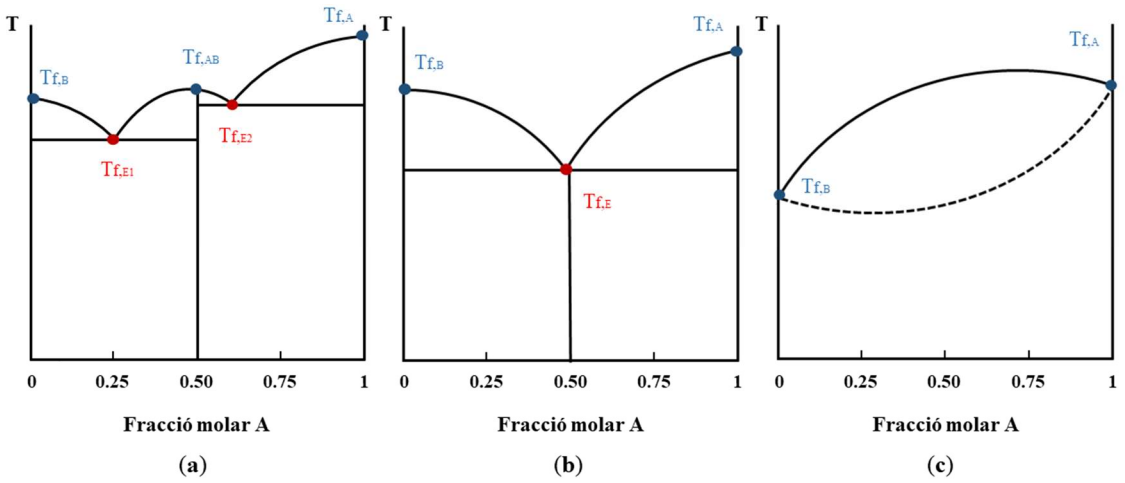


Fig. 1.8. Diagrames de fase binaris: representació de fases binàries que es poden obtenir en els sòlids multicomponent ([●] Punt eutèctic; [●] Temperatura de fusió)

La introducció d'una nova fase líquida (solvent) provoca un canvi en el comportament de cada fase sòlida (principi actiu, coformador i cocristall). En concret, cal determinar l'equilibri entre una fase sòlida i una dissolució a través de la seva corba de solubilitat. La representació de la relació de solubilitats dels sòlids respecte al dissolvent genera un diagrama de fases ternari – principi actiu/coformador/solvent – que és la base per a dissenyar processos de cristal·lització i experiments d'*screening*. Així doncs, la representació dels diagrames de fases ternaris mostra l'existència d'una zona metastable (Fig. 1.9) en la qual es produeix el creixement cristal·lí del cocristall però no la seva nucleació. Una tècnica emprada per a generar cocristalls és preparar dissolucions saturades dins d'aquesta zona i sembrar amb petites quantitats de cocristalls. La zona metastable és depenent de la solubilitat del principi actiu i del coformador i per a sistemes on un és molt més soluble que l'altre, es produeix un desplaçament d'aquesta zona (Fig. 1.9b) fet que condiciona el disseny experimental. La forma del diagrama ternari també està condicionada per la estequiometria del cocristall i la temperatura.

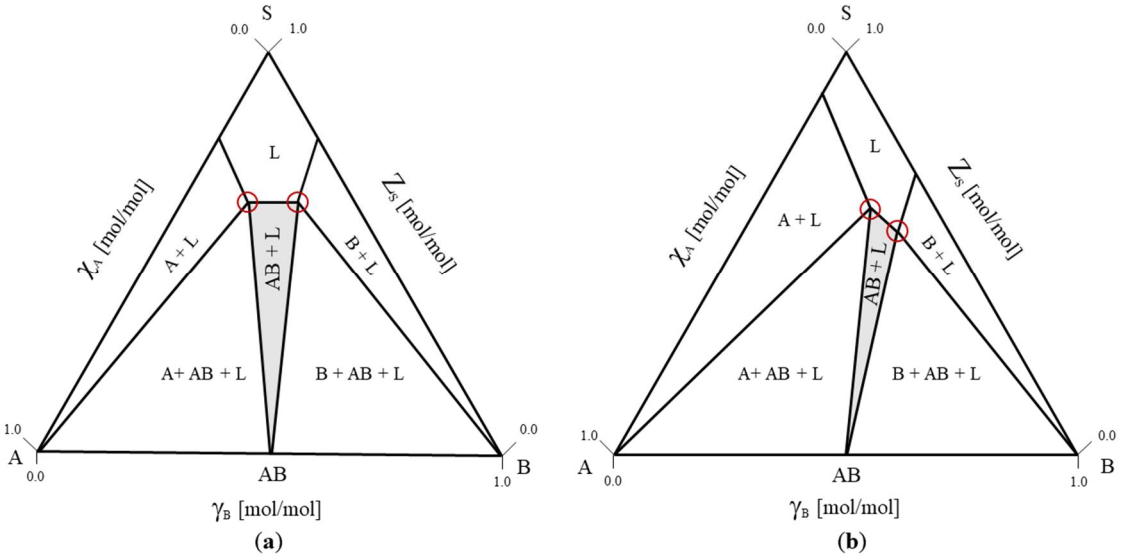


Fig. 1.9. Representació de diagrames de fase ternaris: relació de solubilitats entre el principi actiu i el coformador similar (Fig. 1.9a) o diferent (Fig. 1.9b) ([○] Punt eutèctic. [▢] Zona metastable)

Un cocristall té l'habilitat d'incrementar diversos ordres de magnitud la solubilitat d'un compost. [95] Existeixen diversos treballs per part de Rodríguez-Hornedo *et al.* sobre com determinar la solubilitat d'un cocristall en aigua i les dificultats que presenta la seva determinació. [96, 97] Definir si un cocristall té una millor solubilitat o estabilitat respecte a un principi actiu es realitza a través de la determinació dels paràmetres *SA*, (SA= $S_{cocristall}/S_{principi\ actiu}$), relació de solubilitats cocristall/principi actiu i de la constant del punt eutèctic, K_{eu}. El tipus de cocristall i el medi on es mesura la solubilitat condicionen la seva determinació. Factors com el pH de la solució, [98] la presència i la concentració d'agents solubilitzants del principi actiu (lípids, polímers, detergents) o la concentració del coformador, [99] influeixen en la solubilitat. La relació de solubilitats cocristall/principi actiu, SA, s'incrementa o disminueix en funció d'aquests factors. [97] L'existència d'aquest fenomen de modulació fa que els cocristalls exhibeixin punts de transició on el cocristall és més soluble que el principi actiu o viceversa. Principalment els punts de transició es caracteritzen per:

- pH_{max}: es defineix com el pH en el qual les solubilitats del cocristall i del principi actiu són iguals. Segons quin sigui el tipus de cocristall la seva determinació no és possible i dependrà del grups ionitzables dels components del cocristall.

- Paràmetre SA, també anomenat S* (índex de supersaturació respecte al principi actiu) i la concentració crítica d'estabilització (CSC) causada per agents solubilitzants del principi actiu, per aquells sistemes on es vol prioritzar la solubilització del principi actiu respecte al coformer degut a la component hidrofòbica del principi actiu. En aquest punt de transició la solubilitat del principi actiu i la del cocristall són idèntiques.

Un altre mètode experimental per avaluar la solubilitat del cocristall i la seva estabilitat respecte al principi actiu, és la determinació de l'anomenat punt eutèctic. Aquest punt ve definit per la concentració en dissolució del principi actiu i del coformador quan la dissolució es troba doblement saturada pel principi actiu i pel cocristall. Aquest punt eutèctic depèn de la temperatura, pH, solvent i additius, per tant, també és modulable. La constant de l'eutèctic, K_{eu}, és un indicador de l'estabilitat termodinàmica del cocristall respecte al principi actiu i és defineix com la relació d'activitats entre coformador i el principi actiu en el punt eutèctic, (Equació 1.2): [96]

$$K_{eu}=\frac{a[coformador,eu]}{a[principi\ actiu,eu]} \approx \frac{[coformador]eu}{[principi\ actiu]eu} \qquad (1.2)$$

Un valor de $K_{eu}>1$, per a cocristalls [1:1], és indicatiu de que el cocristall és més soluble que el principi actiu i per valors $K_{eu}<1$, per a cocristalls [1:1], o $K_{eu}<0.5$, per a cocristalls [2:1], el cocristall és més estable i menys soluble. S'estableix doncs una relació entre la constant del punt eutèctic i la relació de solubilitats cocristall/principi actiu (SA) a partir de les següents Equacions 1.3 i 1.4 segons sigui la estequiometria del cocristall, per sistemes 1:1:

$$K_{eu}=\frac{[coformador]eu}{[principi\ actiu]\ eu} = \left(\frac{Scocristall}{Sprincipi\ actiu}\right)^2 \qquad (1.3)$$

i per sistemes 2:1

$$K_{eu}=\frac{[coformador]eu}{[principi\ actiu]\ eu} = 0.5\left(\frac{Scocristall}{Sprinci\ actiu}\right)^3 \qquad (1.4)$$

El valor de la solubilitat del cocristall es relaciona amb la concentració en dissolució de cadascun dels components del cocristall en equilibri amb el cocristall sòlid i un dels seus components (API o coformer). En la determinació del producte de solubilitat (K_{ps}) es considera que no es produeix cap precipitació per part del principi actiu o el coformador i es tenen en consideració totes les espècies que es troben en equilibri en dissolució.

La velocitat de dissolució és un altre dels factors que influeixen en la biodisponibilitat del medicament, especialment quan aquesta limita la seva absorció. [100] La presència de grups polars en la superfície del cristall que es troben en contacte directe amb les molècules d'aigua influeix en la solubilitat aquosa del compost així com la presència de grups ionitzables en l'augment de la velocitat de dissolució. La velocitat de dissolució ve afectada pel canvi local de pH en la superfície del sòlid que es troba en contacte amb la dissolució, aquest microambient de pH és diferent al pH total del sistema i afecta en la solubilitat del compost. [101]

Per altra banda, la solubilitat d'un cocristall es pot descriure segons el model "*spring and parachute*" [102] i que Nangia *et al.* aplica per predir la solubilitat d'un cocristall en el qual el coformador presenta una elevada solubilitat en aigua. [103, 104] El coformador es solubilitza de forma molt ràpida en la dissolució aquosa i en dissociar-se del cocristall, provoca que el principi actiu, que presenta una baixa solubilitat, quedi en forma amorfa. Aquest fet origina una augment de la seva solubilitat aparent i velocitat de dissolució del principi actiu. Aquest sòlid amorf en presentar una elevada entropia i energia lliure, es transforma en un polimorf metastable que amb el temps es transforma en el polimorf termodinàmicament més estable i per tant més insoluble, (Fig. 1.10).

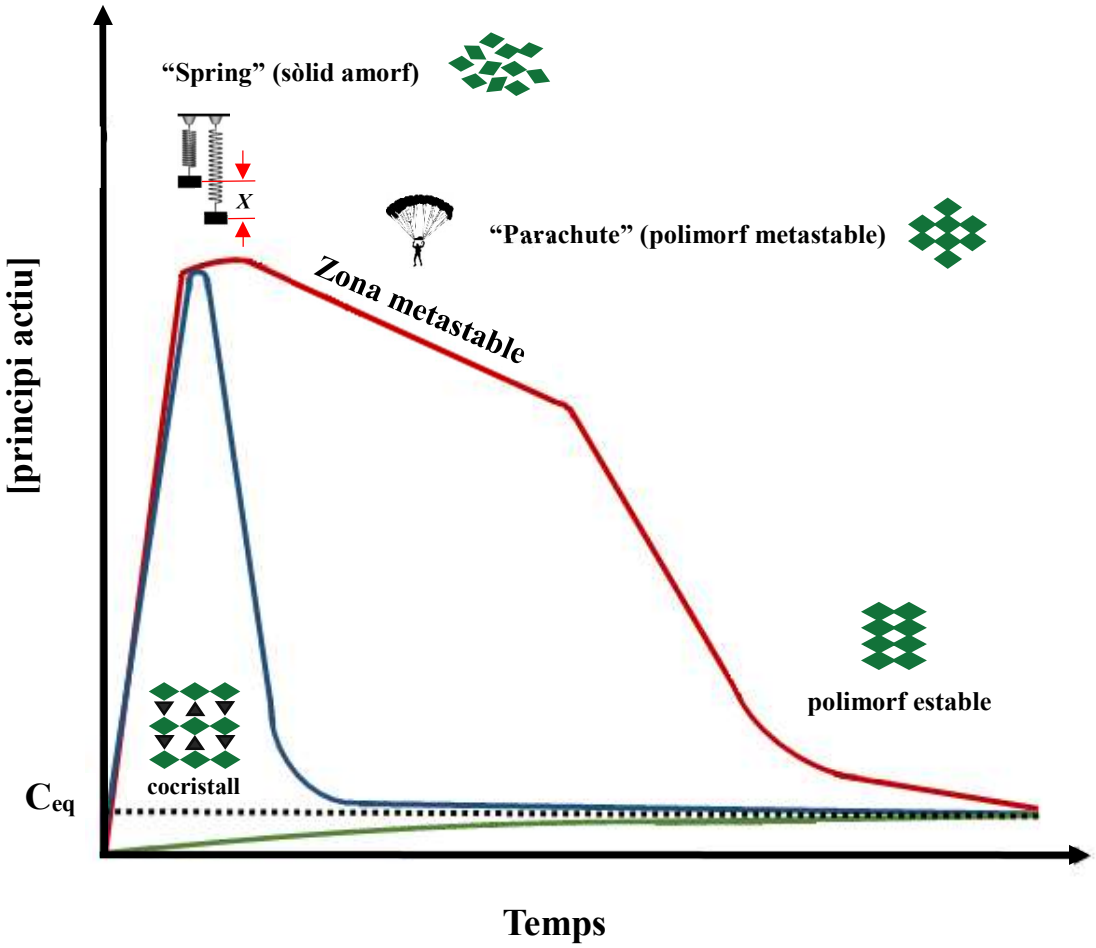


Fig. 1.10. El concepte "*spring and parachute*" aconsegueix explicar la elevada solubilitat aparent per principis actius poc solubles o insolubles. [**verd**] Forma cristal·lina més estable que presenta una baixa solubilitat. [**blau**] Espècie metastable (sòlid amorf) de curta durada que mostra una elevada solubilitat però que ràpidament decau en transformar-se en la forma cristal·lina més estable. [**vermell**] Formes del principi actiu extremadament solubles que es mantenen durant un període suficientment llarg en la zona metastable (Adaptat de la referència [103])

Finalment i donat que la patentabilitat d'un API en forma de cocristall ve condicionada per la demostració de que existeix una millora de la seva biodisponibilitat i/o estabilitat respecte al principi actiu en solitari es fa necessari definir sota quines condicions s'han determinat la solubilitat i la velocitat de dissolució d'un cocristall així com els paràmetres d'estabilitat respecte al principi actiu per tal de protegir la propietat intel·lectual del nou cocristall.

1.2 El fenomen de la cristal·lització: nucleació i creixement cristal·lí

En aquesta secció parlaré del fenomen de la cristal·lització, dels factors que li afecten i de l'existència d'altres fenòmens associats.

La recerca de noves formes sòlides d'un principi actiu implica la realització d'un gran nombre de processos experimentals que intenten cobrir el més ampli espectre de condicions de cristal·lització del compost. El coneixement de les propietats fisicoquímiques del compost a estudiar així com els grups funcionals presents pot servir de guia per planificar els experiments a realitzar, tot i que no serveix de garantia per explorar tot l'espai de cristal·lització.

La cristal·lització és un fenomen que provoca la formació de partícules sòlides a través del vapor, de la solidificació d'un líquid fos o de la formació de sòlids en dissolució. Aquest fenomen és, tenint en consideració la precipitació i les transformacions d'estat sòlid, el procés majoritari que la indústria farmacèutica fa servir per a la formació de partícules sòlides. [105] El procés de cristal·lització es pot descriure a través de dos passos: la nucleació i el creixement cristal·lí [106] estant la formació d'una determinada forma cristal·lina relacionada amb la cinètica que s'estableix entre els dos processos. El fenomen de nucleació és un procés molt poc entès, i tot i que hi ha mecanismes que intenten explicar-ho, avui en dia encara està molt lluny de poder ser explicat satisfactòriament. Malgrat això, el procés de nucleació pot ser explicat a partir de dos mecanismes que pretenen descriure la dinàmica de la formació dels clústers prèvia al creixement cristal·lí. En el primer mecanisme descrit segons la Teoria Clàssica de Nucleació la formació dels clústers, a partir d'una fase sobresaturada, és de forma directa i ja presenta el mateix empaquetament molecular que el cristall final. El segon mecanisme es defineix a partir del model de nucleació en dos passos. [107] En primer lloc es forma el que s'anomena fase líquida densa que és la precursora de l'ordenament del clúster. [108] En segon terme es produeix una reorganització del clúster que forma un estat cristal·lí ordenat. Com identificar i analitzar les propietats d'aquests clústers moleculars és un dels reptes científics per entendre i descobrir la formació de noves formes sòlides. [109] El fenomen del creixement cristal·lí és un procés posterior a la nucleació que es produeix a partir de la formació d'un clúster crític on l'addició de més molècules dona lloc al posterior creixement del nucli. La velocitat de creixement és molt ràpida i la obtenció de formes metastables o estables depèn dels factors cinètics que afectin al creixement. [106] La naturalesa d'aquest factors és molt variada: els grups funcionals de la molècula i la seva mobilitat conformacional, [110, 111] la presència o no de quiralitat i com afecta aquesta a la formació del cristall – cristalls quirals o aquirals –, [112] els efectes de la interacció del solut/solvent en la nucleació, [113] la naturalesa del dissolvent, [114] la sobresaturació, el grau de sobresaturació i la velocitat de sobresaturació, la difusibilitat i la temperatura. [106] Estudis realitzats a altes pressions han obert l'oportunitat a desenvolupar noves tècniques de recristal·lització que proporcionen vies per obtenir nous polimorfs. [115]

La presència d'impureses en els materials a estudiar, així com la naturalesa fisicoquímica del coformador emprat en la cocristal·lització condicionen i afecten els diferents mecanismes de nucleació donant lloc a noves formes, ja siguin estables o metastables. En aquest sentit, la utilització de gels supramoleculars com a medi de nucleació obre una nova estratègia per a la recerca de nous polimorfs. [116, 117]

Un dels efectes que controlen el polimorfisme d'un compost durant l'etapa de la cristal·lització està descrit segons la regla d'Ostwald, [118] que tot i tenir excepcions, es basa en que en un estat d'elevada sobresaturació, la primera forma en nuclear és la forma metastable i que a través de processos de dissolució i recristal·lització es transforma en la forma termodinàmicament més estable (la més insoluble). Així, cal tenir en consideració fenòmens com:

- El polimorfisme concomitant, [119, 120] on la velocitat de nucleació de diferents formes sòlides és tant semblant que la cristal·lització o transformació simultània és present durant l'estudi degut a que l'energia reticular de cada estructura polimòrfica és similar. Aquest fenomen es podria considerar una excepció de la regla d'Ostwald. [119]
- La desaparició de polimorfs, [121, 122] Dunitz i Bernstein van presentar el fenomen de "*disappearing polymorphs*" el qual es troba relacionat amb el control i la reproducibilitat a l'hora d'obtenir un determinat polimorf. Si es troba un polimorf i aquest s'esvaeix no vol dir que ho faci de forma permanent, si no que s'han de reproduir exactament aquelles condicions experimentals en les quals es va trobar.
- Estructures amb múltiples molècules en la unitat asimètrica, Z'>1, [123] molècules petites i rígides i amb fortes interaccions intermoleculars direccionals provoquen una competició entre les interaccions i el factors d'empaquetament. Aquelles molècules on prima l'empaquetament per sobre de la simetria del cristall generen uns cristalls que presenten el que s'anomena una simetria cristal·logràfica aproximada (*pseudosimetria*) degut a petites variacions en la localització de la molècula dins el cristall provoquen la presència de dues o més molècules a la unitat asimètrica. Aquest cristalls poden ser termodinàmicament estables tot i que presentin un empaquetament poc eficient (densitat d'empaquetament baixa) degut al tipus i nombre d'interaccions intermoleculars presents. Aquestes estructures poden ser descrites com estructures modulades de Z'=1 on en funció de la temperatura podem passar a estructures amb Z'>1 de forma reversible. [124] Un exemple d'obtenció és a través de les cristal·litzacions generades a partir de la fusió o de la sublimació que són precursores de la formació d'estructures amb Z'>1. [125]

Dissenyar processos on es combinin diferents tipus de cristal·lització de tal manera que les velocitats de nucleació i de creixement cristal·lí es vegin afectades és la base per condicionar la formació de noves formes sòlides. De forma general es considera que les formes estables s'obtenen a través de condicions termodinàmiques (processos prolongats en el temps) i les formes metastables a través de condicions cinètiques (processos molt ràpids). De la mateixa manera, el tipus de morfologia i mida del cristall ve condicionat per la termodinàmica del procés on una cristal·lització a prop de la sobresaturació i prolongada en el temps origina la formació de cristalls grans i un refredament ràpid durant el procés de cristal·lització origina cristalls petits.

Així doncs el fenomen de la cristal·lització segueix generant moltes qüestions en quant als mecanismes que el formen. Aquest fenomen depèn de molts factors, entre ells la casualitat (*serendipity*, [126]), que condicionen el resultat final de la cristal·lització i l'aparició de fenòmens com el polimorfisme, la desaparició de polimorfs o múltiples molècules en la unitat asimètrica.

1.3 Enginyeria cristal·lina i química supramolecular de l'estat sòlid

En aquesta secció introduiré les principals interacciones intermoleculars objecte d'estudi en la química supramolecular de l'estat sòlid i que serveixen de base per dissenyar nous cocristalls a través de l'enginyeria cristal·lina.

La química molecular ha desenvolupat al llarg dels anys processos que permeten sintetitzar sofisticades molècules a partir de la unió dels àtoms a través d'enllaços covalents. La formació de noves entitats químiques complexes mitjançant les interaccions moleculars no covalents és el principal objectiu de la química supramolecular. Aquest camp s'ha desenvolupat en dues branques: l'estudi d'interaccions intermoleculars en dissolució (reconeixement molecular) i en l'estat sòlid (enginyeria cristal·lina).

La combinació de totes les conformacions possibles d'una molècula juntament amb un empaquetament òptim per a cada estructura segons la simetria de cadascun dels 230 grups espacials que existeixen, [127] originen un número molt elevat de possibles estructures cristal·lines. D'aquestes, tan sols un nombre molt reduït es materialitzen en forma de cristalls estables degut a l'efecte que exerceixen les interaccions intermoleculars sobre l'empaquetament cristal·lí i a la seva influència tant en la nucleació com en el creixement cristal·lí. La tendència de qualsevol molècula d'empaquetar-se amb ella mateixa o amb una altra molècula en una determinada conformació donant lloc a un mínim d'energia i a una màxima densitat d'empaquetament produeix la forma cristal·lina termodinàmicament més estable. Aquesta màxima densitat d'empaquetament implica que l'existència de buits ha de ser mínima per tal de tenir un empaquetament eficient tal i com reflecteix el principi d'empaquetament de Kitaigorodskii. [128-129]

Les principals interaccions moleculars no covalents que estableixen els compostos orgànics són, (Fig. 1.11):

- Forces isotròpiques febles de tipus dispersiu (0.25 Kcal/mol) que afecten directament l'empaquetament íntim entre molècules degut a l'elevada superfície de contacte i que influeixen directament en la forma i la mida del cristall (forces de van der Waals). [128, 130]

- Forces anisotròpiques fortes de tipus electrostàtic i direccionals com els enllaços d'hidrogen, [131] les interaccions dipolars, [132] els enllaços d'halogen [133] i les interaccions aromàtiques (π···π, [134] H···π, [135] ió···π, [136] n···π [137]) (0.25 - 40 Kcal/mol). [138, 139]

- Efecte inductiu (o polaritzant) que produeix una interacció atractiva entre un multipol permanent d'una molècula que indueix el multipol d'una altra. [140]

- Interaccions *a priori* repulsives del tipus anió···anió [141] o forces de van der Waals a distàncies molt pròximes. [142, 143]

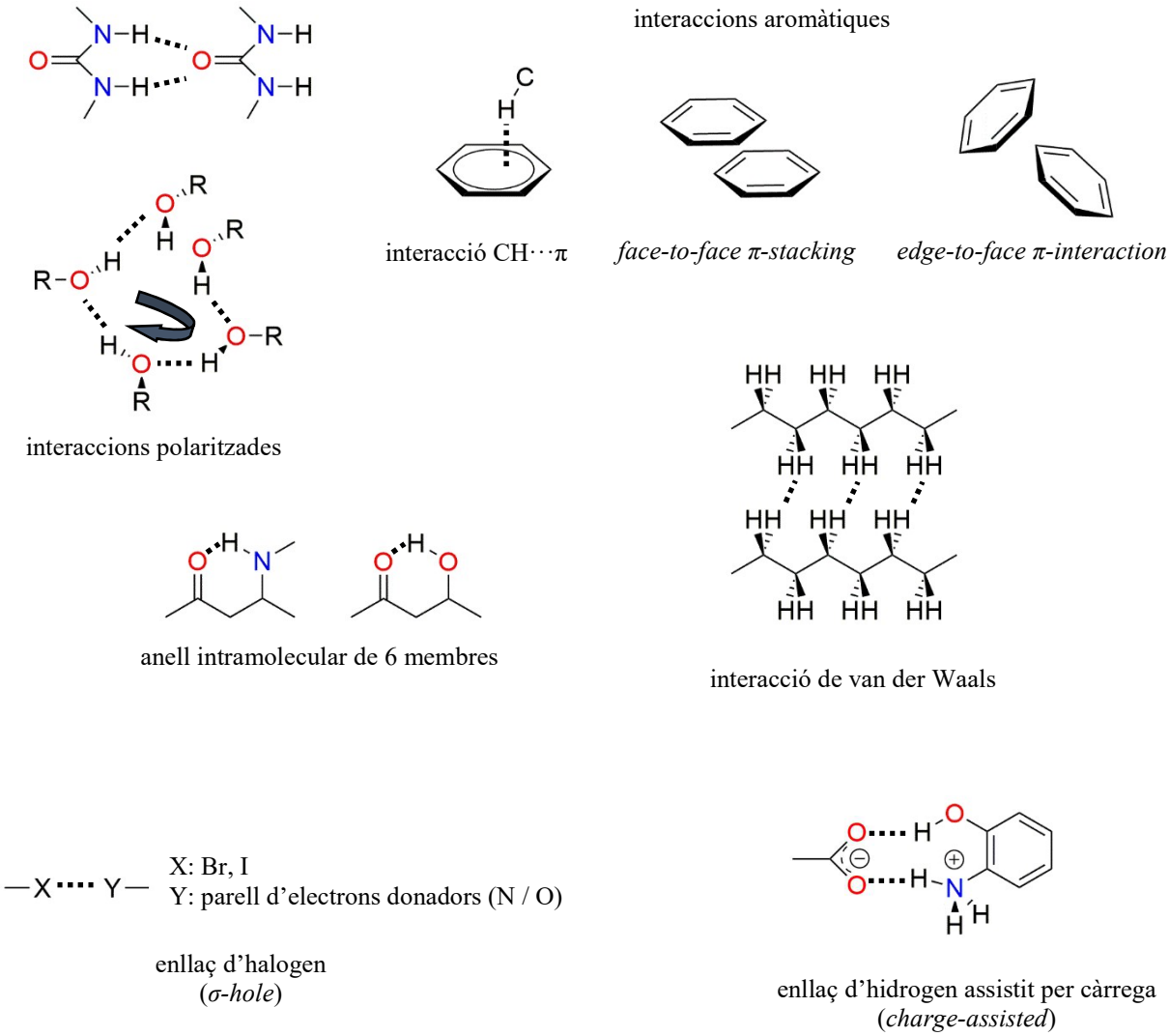


Fig. 1.11. Exemples d'interaccions moleculars no covalents

Es considera que l'enllaç d'hidrogen és la interacció més important que afecta de forma directa en la formació del cristall degut a la seva força i direccionalitat respecte a altres forces intermoleculars. Etter i Donohue van determinar estadísticament una sèrie de regles per predir les interaccions d'enllaç d'hidrogen implicades en la formació del cristall: [144, 145]

- L'enllaç d'hidrogen en l'estructura cristal·lina inclourà tot els àtoms d'hidrogen disponibles amb elevada acidesa.
- Tots els àtoms acceptors participaran en la formació de l'enllaç si hi ha la disponibilitat de l'hidrogen donador de forma adequada.
- L'enllaç d'hidrogen té lloc de forma preferent entre el millor hidrogen donador i el millor àtom acceptor.
- La formació d'un enllaç d'hidrogen intramolecular amb la formació d'un anell de sis membres és preferible a la formació d'un enllaç d'hidrogen intermolecular.

Els sintons supramoleculars (fragments moleculars que formen associacions a través d'enllaços no covalents) es presenten amb una determinada geometria i són les unitats estructurals que es repeteixen al llarg de l'estructura supramolecular. En base a l'enllaç d'hidrogen, es parla d'homosintons supramoleculars quan els fragments moleculars que formen el sintó són idèntics i d'heterosintons supramoleculars si els fragments són diferents, [146] (Fig. 1.12).

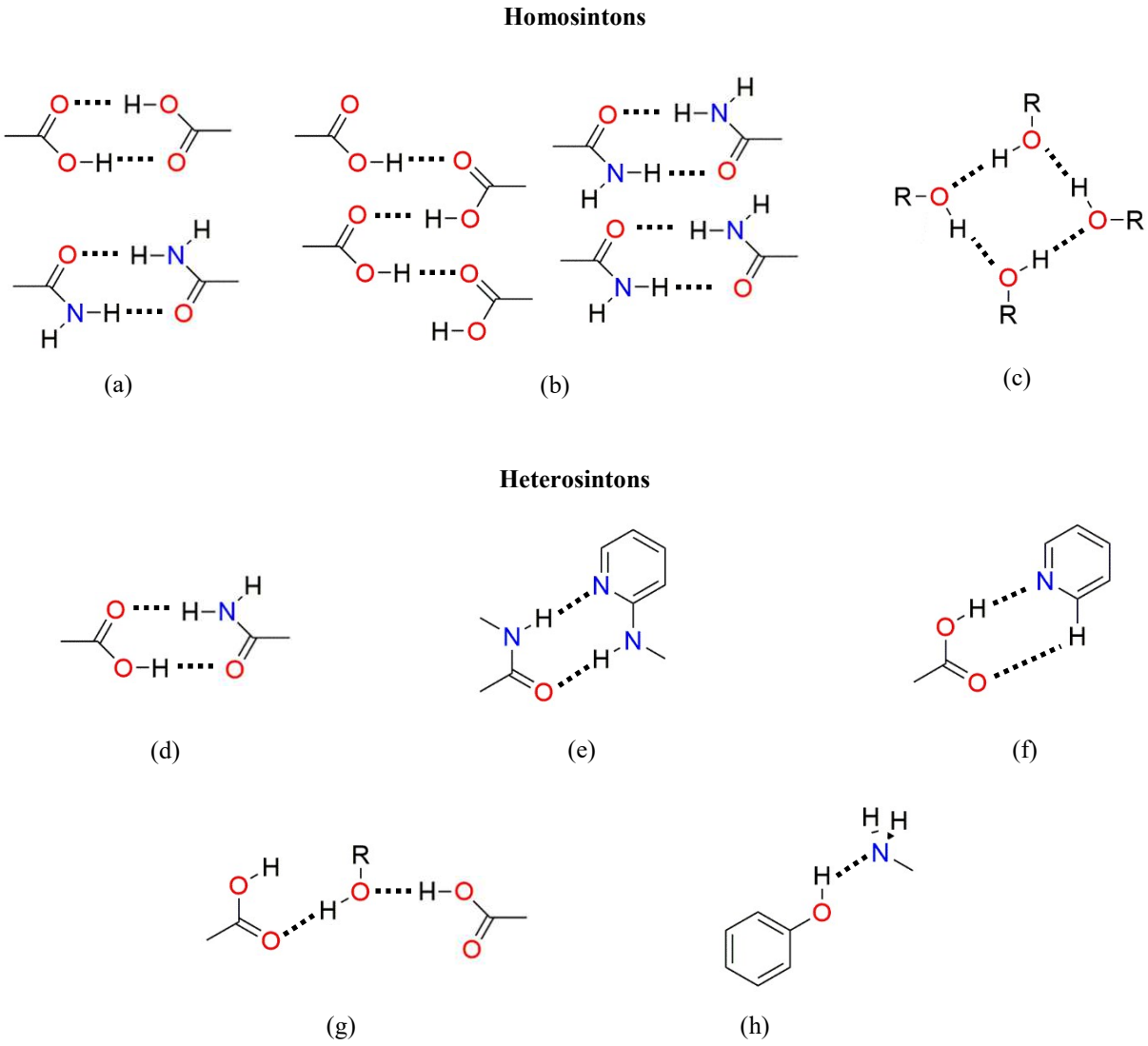


Fig. 1.12. Representació de sintons supramoleculars. (a) i (b) Dímers i catèmers presents en àcids carboxílics i amides. (c) Tetràmers presents en alcohols. (d) Àcid carboxílic – amida. (e) Amida – aminopiridina. (f) Àcid carboxílic – piridina. (g) Àcid carboxílic – alcohol. (h) Fenol – amina

Els efectes derivats de les interaccions intermoleculars són molt variats i afecten tant al creixement del cristall com a l'empaquetament cristal·lí on fenòmens com l'"*intergrowth polymorphism*" (un mateix monocristall presenta dos dominis estructurals diferents) [147] o la polaritzabilitat d'enllaç d'hidrogen també estan presents en determinades estructures cristal·lines. [148]

El càlcul de la superfície de Hirshfeld [149, 150] és de gran utilitat per analitzar les interaccions intermoleculars presents en els cristalls, (Fig. 1.13). Aquesta es defineix com la regió de l'espai al voltant d'una molècula formada per aquells punts en els quals la seva densitat electrònica, ρ_i (r), té una contribució per part dels àtoms dins de la superfície (*promolècula*) igual a la contribució per part de la resta d'àtoms del cristall. w(r) és una funció ponderada que representa la relació entre la suma de les densitats electròniques ρ_i (r) dels àtoms dins de la superfície i la suma de les densitats electròniques de la resta d'àtoms del cristall. Així doncs, cada punt que conforma la superfície de Hirshfeld compleix que la funció w(r) és igual a 0.5, Equació 1.5.

$$w(\mathbf{r}) = \sum_{i \in molècula} \rho_i(\boldsymbol{r}) \,/\, \sum_{i \in cristall} \rho_i(\boldsymbol{r}) \qquad (1.5)$$

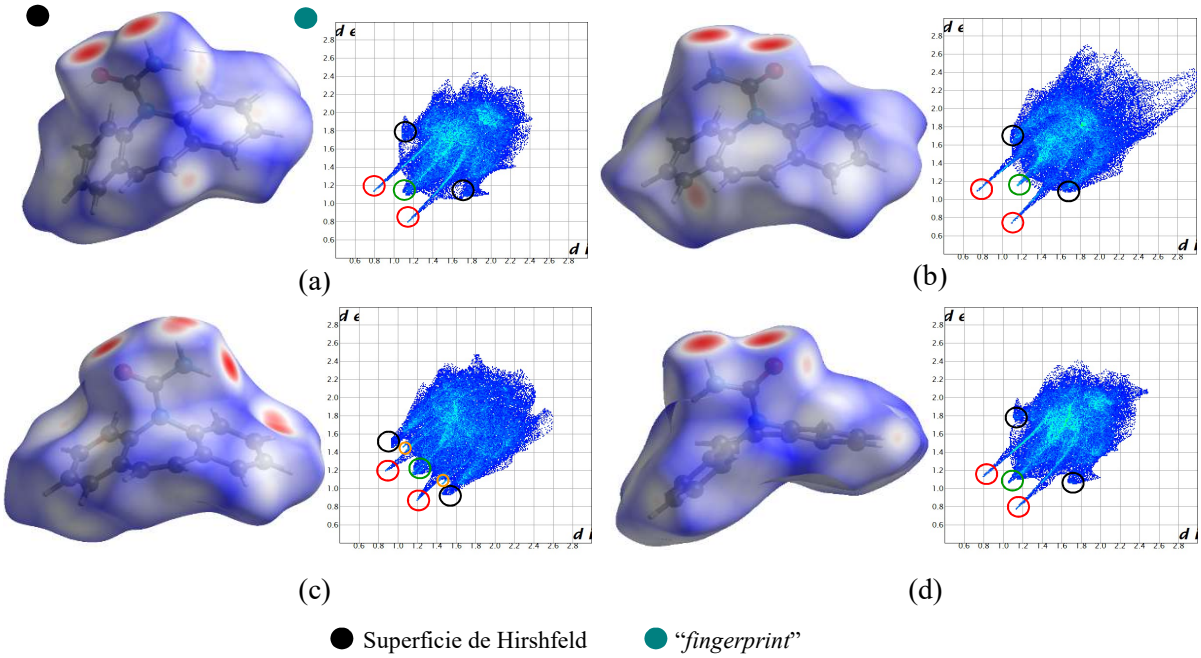


Fig. 1.13. Superfícies de Hirshfeld dels diferents polimorfs del principi actiu carbamazepina, cifs dipositats a la CSD [151]. (a) CBMZPN02 ($P2_1/n$). (b) CBMZPN12 ($C2/c$). (c) CBMZPN16 ($Pbca$). (d) CBMZPN12 ($P2_1$). [◯]: interacció H···H, [◯] interacció H···O, [◯] interacció H···C i [◯] interacció H···N

Addicionalment, la superfície de Hirshfeld permet construir una empremta molecular en 2D (*fingerprint*) que descriu les interaccions moleculars dins del cristall. Aquesta es genera a través de la representació dels paràmetres d_i i d_e per a cada punt de la superfície de Hirshfeld definits com: (Fig. 1.14)

- d_i: distància de la superfície a l'àtom interior més proper
- d_e: distància de la superfície a l'àtom exterior més proper

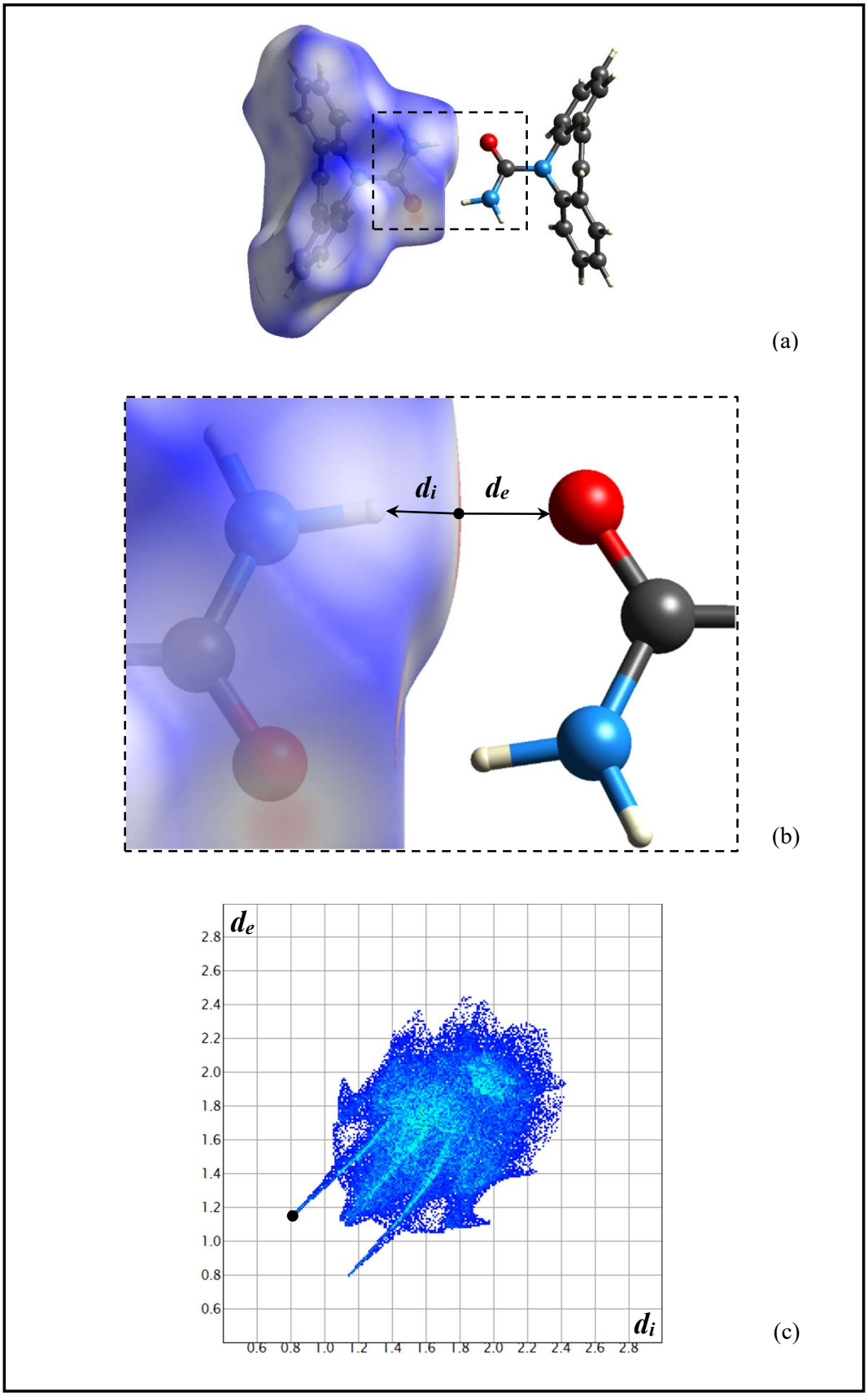


Fig. 1.14. (a) Superfície de Hirshfeld del principi actiu carbamazepine CBMZPN02. (b) Representació esquemàtica de les distàncies d_i i d_e per a un determinat punt de la superfície de Hirshfeld. (c) Localització d'aquest punt dins del "*fingerprint*"

1.4 Tècniques experimentals d'*screening* de formes sòlides

En aquesta secció realitzaré un recull de les principals tècniques d'*screening* emprades en la recerca de noves formes sòlides i quina és la més idònia en funció de si el compost a estudiar presenta polimorfisme o si es vol desenvolupar com un nou sòlid en forma de sal o cocristall.

De forma general, les tècniques d'*screening* de formes sòlides s'han desenvolupat en dues categories basades en la presència o absència de dissolvent. La recerca de la forma més estable es basa en emprar tècniques de cristal·lització prolongades en el temps (per tal d'assolir condicions termodinàmiques) mentre que l'obtenció de formes metastables requereix temps curts de cristal·lització (per assolir condicions cinètiques).

En primer lloc descriuré aquelles metodologies experimentals en els quals no s'utilitzen dissolvents per obtenir noves formes sòlides i que principalment tenen incidència directa sobre els processos de fusió i cristal·lització del sòlid. Els principals mètodes són les cristal·litzacions a partir de la fusió (*quenching from the melt*), les transformacions induïdes per la temperatura – la transició vítria o la transició sòlid-sòlid, les cristal·litzacions, la fusió seguida de cristal·lització – (Fig. 1.15), la sublimació i la desolvatació/deshidratació de solvats/hidrats a diferents temperatures i velocitats.

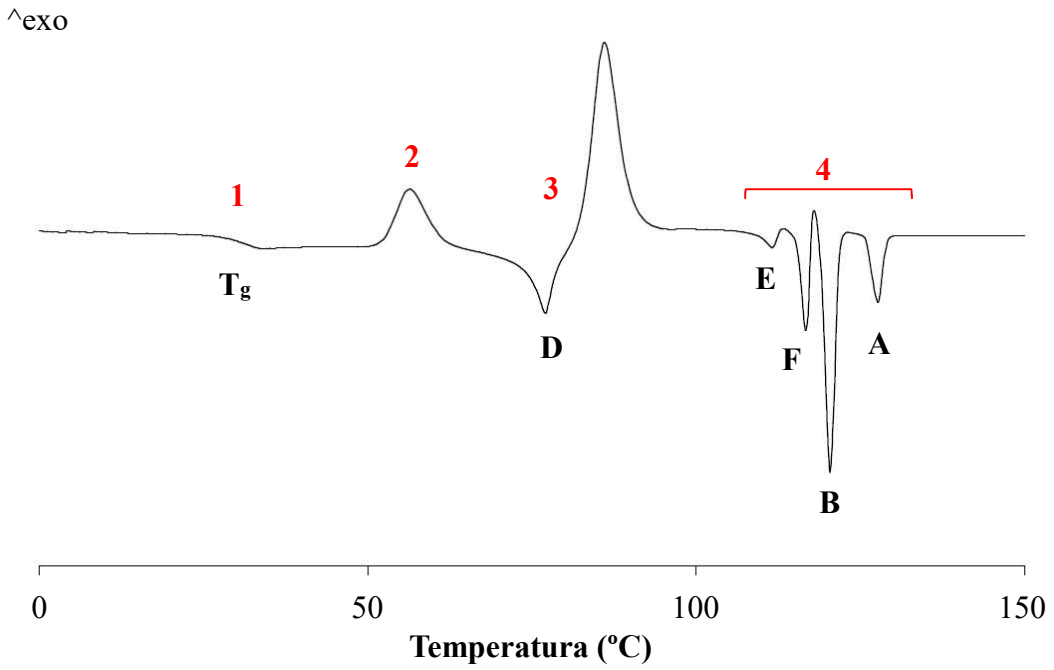


Fig. 1.15. Representació del termograma de DSC del compost (*S*)-triphenylglycol a partir del procediment *quenching from the melt*. [1] Transició vítria. [2] Cristal·lització a partir de l'estat vidriós. [3] Fusió seguida de cristal·lització. [4] Fusió de diferents fases (Adaptat de la referència [152])

El principal paràmetre que es pot modificar i que es troba relacionat amb la termodinàmica o la cinètica del procés de cristal·lització és la velocitat d'escalfament, de refredament o de desolvatació. Generalment, els mètodes d'aquesta categoria estan relacionats amb les tècniques d'anàlisi tèrmica: la calorimetria diferencial d'escombrat (DSC), l'anàlisi termogravimètrica (TGA) i termomicroscòpia (HSM). Principalment es fa servir en la recerca de nous polimorfs i cocristalls. A continuació es descriuen dos exemples emprats en la recerca de cocristalls:

- via DSC: la mescla física del principi actiu i del coformador s'escalfa en el gresol més enllà del punt eutèctic. Lu *et al.* van definir una sèrie de regles per veure si s'ha format un cocristall durant un experiment de DSC: per exemple, observació de dos fenòmens endotèrmics (un corresponent a l'eutèctic i l'altre a un punt de fusió del cocristall) o observació d'un fenomen exotèrmic seguit a la fusió de l'eutèctic. [153]
- via HSM es basa en el mètode de contacte de Kofler. [154] La formació del cocristall és a través de la difusió d'un sòlid – principi actiu/coformador – que presenta un punt de fusió més baix a través de l'altre sòlid – principi actiu/coformador – que presenta un punt de fusió més elevat, (Fig. 1.16).

En el cas d'obtenir indicis via DSC o HSM és necessària la caracterització per altres tècniques (difracció de raigs X o ressonància magnètica nuclear).

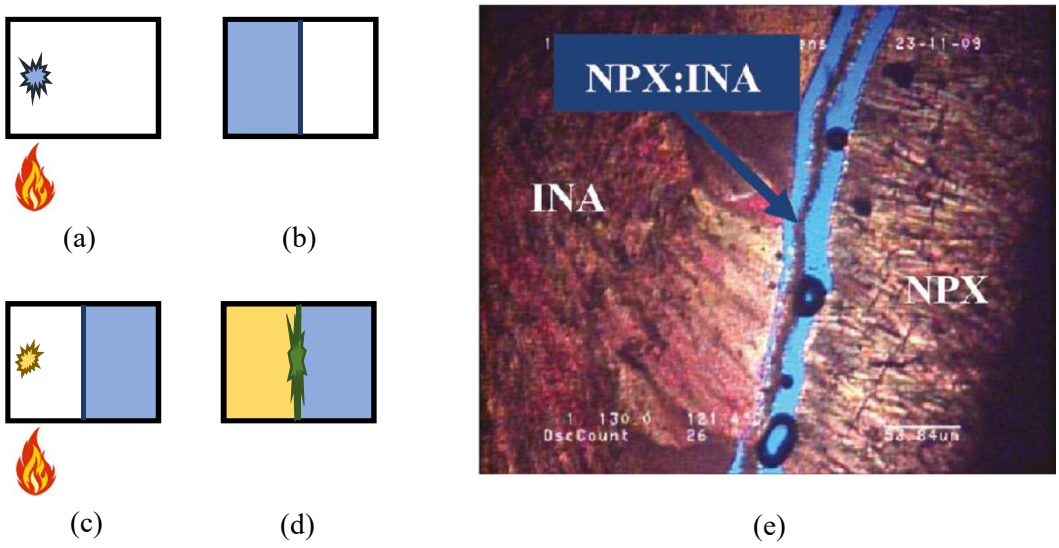


Fig. 1.16. Esquema de preparació de mostra per a l'estudi de cocristalls segons el mètode de contacte de Kofler. (a) i (b) Fusió del compost amb punt de fusió més elevat. (c) Fusió del compost amb punt de fusió més baix. (d) Formació del cocristall a través de la difusió entre els sòlids. (e) Cocristall de Naproxen-isonicotinamida (NPX:INA) obtingut a partir del mètode de contacte de Kofler [155]

En segon lloc descriuré aquelles metodologies que poden emprar o no dissolvent en funció de la recerca que es vulgui dur a terme. Les principals metodologies són:

- L'activació mecanoquímica on la generació de noves formes sòlides es realitza a partir de microfusions i cristal·litzacions simultànies dels sòlids. Aquesta metodologia s'anomena *net grinding* (sense emprar dissolvent) i es por aplicar tant de forma manual en un morter com de manera mecànica (*ball milling*). Aquests processos en molts casos generen sòlids amorfs que poden cristal·litzar en noves formes sòlides. [156] En funció del tipus de líquid o medi que es fa servir es parla de LAG (o *kneading*) (dissolvents), [157] ILAG (introducció de sals inorgàniques com additius) o POLAG (introducció de petites quantitats de polímer). [158] Principalment es fa servir aquesta tècnica en la recerca de nous polimorfs, sals i cocristalls, per aquests últims es realitza una mescla física del principi actiu i el coformador com a material de partida:
  - Polimorfisme: per a la recerca de nous polimorfs i, reduint la mida de partícula i variant el dissolvent, canviar l'estabilitat relativa entre polimorfs. [36,37]
  - Cocristalls: a través de l'energia mecànica s'inicia la cocristal·lització dels dos components amb una petita quantitat de dissolvent i per tant situant la cocristal·lització en una zona del diagrama de fase ternari a on la presència d'altres fases diferents al cocristall és mínima. Aquesta tècnica permet realitzar un *screening* amb diferents relacions molars, [159] variant el temps i velocitat de *grinding,* així com el tipus de dissolvent de forma que variï el grau de saturació dels components.

- Tècnica HME: es tracta d'un procés de manufacturació que treballa de forma continua i que s'empra tant per a la formulació de productes farmacèutics [160] com per a la síntesi de cocristalls amb o sense dissolvent (o matriu de cocristal·lització). [161, 162] El *Twin-screw extrusion* (TSE) és un procediment emprat per a l'escalat de cocristalls degut a la seva reproductibilitat en quant a puresa i rendiment. [163] Es considera que és una branca del processos mecanoquímics, (Fig 1.17).

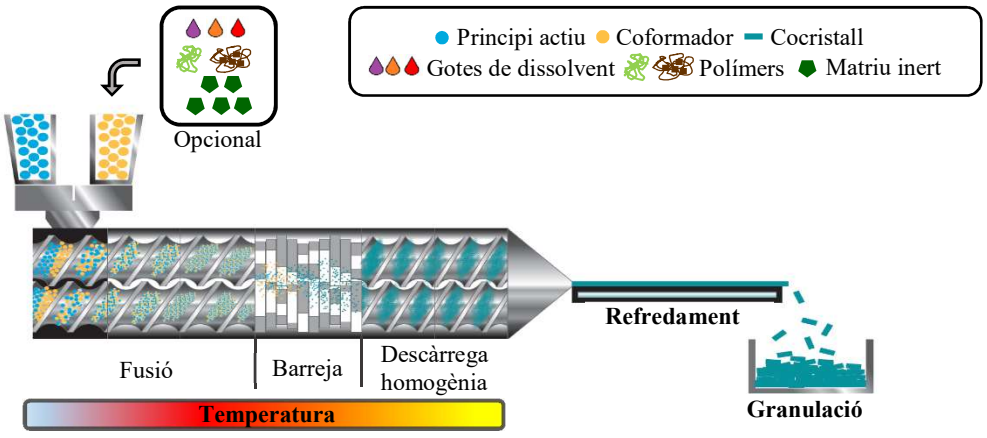


Fig. 1.17. Representació esquemàtica del procés de cocristal·lització dins del *twin-screw extruder* (Adaptat de la referència [161])

En tercer terme descriuré aquelles metodologies on l'obtenció de les noves formes sòlides implica només la utilització de dissolvents (o mescla de dissolvents). Formen part d'aquesta categoria les següents metodologies:

- Processos de cristal·lització: metodologies tradicionals com poden ser les cristal·litzacions per refredament, per evaporació o a través de l'addició d'antisolvent. Aquestes metodologies són emprades en la recerca de polimorfs, sals i cocristalls on aquest últims s'han d'introduir en una determinada estequiometria. Els principals paràmetres que es poden modificar són:
  - La velocitat d'escalfament i de refredament
  - El grau de sobresaturació
  - La naturalesa del dissolvent (o mescles de dissolvents) i pH del medi
  - La velocitat d'agitació
  - La velocitat d'evaporació: variant la superfície d'evaporació o utilitzant una corrent de gas
  - La velocitat d'addició d'antisolvent
  - La introducció de gels o additius en el medi de cristal·lització
- Processos on es preparen suspensions:
  - Transformacions per mitjà de dissolvent [*Solvent-Mediated Transformation*] [164]: és una tècnica que permet determinar l'estabilitat relativa entre polimorfs. Partint d'una mescla equimolar de dos polimorfs (estable i metastable) es realitza una suspensió en un dissolvent a una determinada temperatura i durant un determinat temps per mirar d'obtenir el polimorf termodinàmicament més estable en aquelles condicions. La velocitat de transformació ve determinada per la relació de solubilitats entre els polimorfs i la interacció sòlid-dissolvent. Canvis en la temperatura, la velocitat d'agitació, una mescla de dissolvents o l'addició d'additius [165] poden afectar tant a l'estabilitat relativa dels polimorfs com a l'aparició de noves formes sòlides.
  - En quant a la recerca de cocristall es parla de processos de "*slurries*" on la formació de la nova fase depèn del coeficient d'activitat crítica del coformador en la dissolució. Els components del cocristall es suspenen en un dissolvent on són parcialment solubles generant una activitat pròpia dels dos components. La formació del cocristall és favorable si aquest coeficient d'activitat generat és més gran que l'activitat crítica del coformador. [166]
  - *Reaction crystallizaton method* [167], metodologia emprada per a la recerca de sals o cocristalls on els components presenten unes solubilitats prou diferents per a un determinat dissolvent. És una metodologia on es prepara una dissolució saturada del component que presenta una major solubilitat i s'addiciona l'altre component amb solublitat menor fins a l'observació d'una suspensió.

Dins d'aquest grup de metodologies que fan servir dissolvent, Friščić *et al.* [168] va introduir el paràmetre empíric η (μL/mg) (Equació 1.6) com a guia qualitativa per al disseny d'experiments de cocristal·lització emprant la mínima quantitat de dissolvent i es defineix com la relació entre el volum de la fase líquida i les masses dels components del cocristall.

$$\eta = \frac{\mathrm{V[volum\ del\ líquid]}}{m[principi\ actiu] + m[coformado\ ]} \qquad (1.6)$$

El paràmetre η i les solubilitats dels components del cocristall per a un ampli grup de dissolvents de treball són els paràmetres necessaris per al disseny d'experiments de cocristal·lització sense la necessitat de construir un diagrama de fase ternari i per a la predicció de forma ràpida quina és la millor via per cocristal·litzar els components. El paràmetre η representa el link entre la cocristal·lització via *neat grinding* (η= 0), LAG (η=0.1-2 μL/mg), *slurries* (η= 2-12 μL/mg) i cocristal·lització a partir d'una dissolució (η>12 μL/mg).

- Metodologies on es fa servir un gas com agent precipitant:
  - *spray-drying* és emprada tant en la recerca de polimorfs (normalment s'obtenen formes metastables o amorfes) [169] com en la de cocristalls [170]. El *spray- drying* és una tècnica que permet obtenir un sòlid a partir d'una dissolució o suspensió que s'asseca ràpidament per efecte d'un gas calent.
  - Tècnica de fluids supercrítics fent servir CO_2 supercrític com a antisolvent en l'obtenció de polimorfs [171] i cocristalls. [172]
- Metodologies en les quals s'empra els ultrasons - sonicació [173] o la utilització de microones en l'obtenció de polimorfs o cocristalls. [174]
- Metodologies on es varia la matriu de cristal·lització introduint:
  - polímers, [175]
  - líquid iònics, [176-178]: normalment són sals que presenten un punt de fusió per sota de 100 ºC. També existeixen líquid iònics a temperatura ambient (RTLIs). Tanmateix poden estudiar-se per ser subministrats en forma de principis actius on la existència de polimorfisme queda descartada, [179]
  - i utilització de gels en la recerca de noves formes sòlides. [180-182]
- Via cocristal·lització de forma espontània quan els components d'un cocristall es disposen a diferents humitats relatives. [183]

Malgrat que la recerca de nous solvats durant l'estudi de polimorfisme no acostuma a ser l'objectiu principal de l'estudi, la seva obtenció és de gran utilitat degut a que la seva desolvatació possibilita el descobriment de noves formes anhidres. Així doncs, en la recerca de nous hidrats es poden fer servir algunes de les següents metodologies:

- Preparació de suspensions a diferents temperatures amb diferents proporcions de dissolvent/aigua per canviar el coeficient d'activitat de l'aigua. [184]
- Emmagatzematge dels sòlids sota atmosfera d'humitat relativa controlada:
  - en vials individuals amb diferents dissolucions saturades de sals inorgàniques, [185]
  - en cambres d'humitat o a través d'experiments DVS [*Dynamic Vapour Sorption*] a temperatures estàndards de 25 ºC i 40 ºC. [186]
- Utilització de l'aigua com a dissolvent únic en:
  - experiments on actuï com a antisolvent
  - cristal·litzacions
  - suspensions partint de polimorfs metastables
  - suspensions partint de solvats per mirar de desplaçar el dissolvent orgànic
- Deshidratar un hidrat fins a sequedat o fins a un hidrat d'estequiometria inferior.

Respecte a l'obtenció de solvats:

- Emmagatzematge dels sòlids (anhidres, hidrats o solvats) en atmosferes de dissolvents orgànics
- Realització de diferents suspensions a diferents temperatures
- Realització de cristal·litzacions en diferents dissolvents orgànics
- Utilització de barreges de dissolvents

Existeixen nombrosos treballs [187-189] que descriuen les principals metodologies emprades en la recerca de noves formes sòlides. La seva aplicació dependrà de la quantitat de mostra disponible, de les particularitats del sòlid a estudiar i del temps que es disposi per a la realització de l'estudi. La recerca ideal però, és aquella on s'utilitza una combinació de metodologies amb o sense dissolvent i amb procediments manuals i automatitzats, (Fig. 1.18).

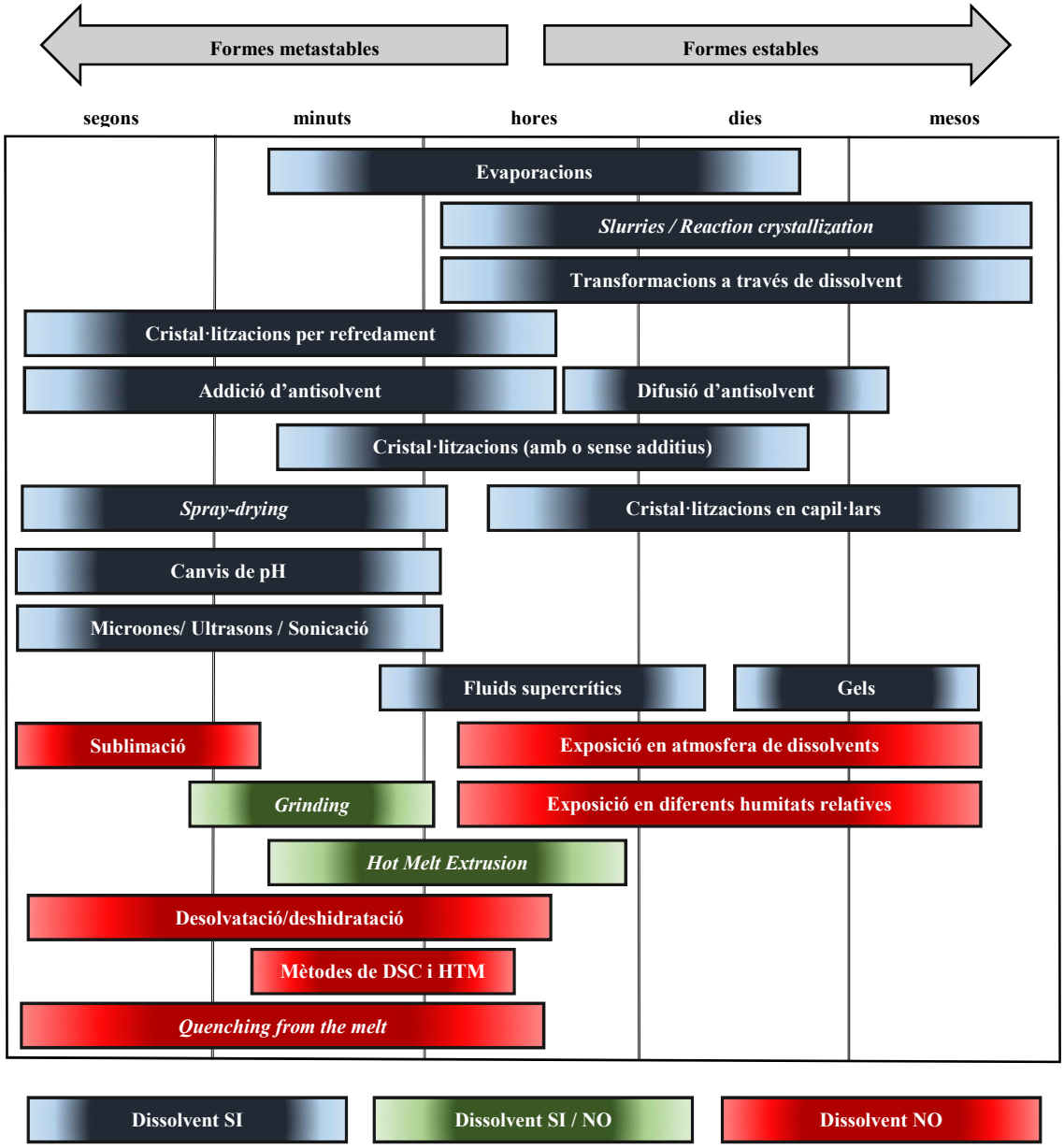


Fig. 1.18. Representació esquemàtica del temps estimat dels procediments experimentals emprats en la recerca de noves formes sòlides (Adaptat de la referència [187])

CAPÍTOL 2. OBJECTIUS

L'objectiu general d'aquesta tesi és desenvolupar una sèrie de metodologies d'*screening* de noves formes sòlides que sigui versàtil, eficient i aplicable a nivell industrial per a la cerca de noves formes cristal·lines de principis actius farmacèutics i nutracèutics, incloent-hi polimorfs i cocristalls.

Aquest treball s'ha estructurat amb els següents objectius individuals:

- Disseny i optimització d'una metodologia experimental general a escala de gram per a l'estudi de polimorfisme de compostos orgànics.

- Utilització de diferents metodologies per a l'elecció de coformadors per a principis actius: enginyeria cristal·lina i tècniques computacionals.

- Disseny i optimització d'una metodologia experimental general per a l'estudi de cocristalls a escala de gram.

- Aplicació i posada a punt de les anteriors metodologies amb casos pràctics d'interès. Aquesta etapa es completarà amb la caracterització estructural dels sistemes polimòrfics i de cocristalls estudiats. En alguns casos es farà l'escalat dels polimorfs i cocristalls descoberts per a realitzar estudis de solubilitat i proves *in vivo*.

CAPÍTOL 3. RESULTATS

Els resultats obtinguts durant la realització d'aquesta tesi doctoral han generat cinc publicacions, quatre en forma d'articles i una en forma de patent. També s'inclou a l'apèndix el material suplementari que s'ha publicat conjuntament amb l'article. A continuació es detalla els autors i el títol de cada publicació i un breu resum de cadascun d'ells:

Article 1

Rafael Barbas, Mercè Font-Bardia and Rafel Prohens, *Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate, Cryst. Growth Des*. **2018**, *18*, 3740-3746. (Material suplementari Apèndix A)

Resum: Un nou polimorf de la base lliure del sildenafil i dos solvats (un d'acetonitril i un altre de propionitril) han estat descoberts i estudiats. El nou polimorf s'obté a partir de la desolvatació del solvat d'acetonitril i la seva estructura cristal·lina s'ha resolt a partir de dades de difracció de raigs X de pols. Aquest polimorf és metastable i es relaciona respecte al que ja existeix per morfotropisme.

Article 2

Rafael Barbas, Rafel Prohens, Mercè Font-Bardia, Antonio Bauzá and Antonio Frontera, *Hydrogen bonding versus π-interactions: their key competition in sildenafil solvates, CrystEngComm*, **2018**, *20*, 4526-4530. (Material suplementari Apèndix B)

Resum: Aquest estudi descriu quatre nous solvats de la base del sildenafil (cloroform, toluè, anisol i dioxà). S'ha estudiat la influència que té en les estructures cristal·lines la formació d'un enllaç d'hidrogen intramolecular i com, en funció del dissolvent, aquest enllaç intramolecular es trenca per formar noves interaccions aromàtiques (π-π i lp-π). Aquestes interaccions són més favorables i podrien obrir noves vies de recerca de cocristalls amb coformadors que presentin anells aromàtics.

Article 3

Rafael Barbas, Mercè Font-Bardia, Anant Paradkar, Christopher A. Hunter and Rafel Prohens, *Combined Virtual/Experimental Multicomponent Solid Forms Screening of Sildenafil: New Salts, Cocrystals and Hybrid Salt-Cocrystals, Cryst. Growth Des*., **2018**, *18*, 7618-7627. (Material suplementari Apèndix C)

Resum: Vint-i-tres formes sòlides de la base lliure del sildenafil han estat descobertes a partir de l'*screening* combinat virtual/experimental de cocristalls. La selecció dels dotze coformadors emprats s'ha realitzat a partir d'una metodologia virtual d'*screening* de cocristalls que calcula la probabilitat de formar un cocristall a partir d'una base de dades de més de 2000 compostos orgànics. A partir de l'*screening* experimental s'han obtingut noves sals, cocristalls i inesperats híbrids sal-cocristall, s'han estudiat cinc estructures cristal·lines i s'han comparat dades de solubilitat respecte a la sal de citrat de sildenafil que es troba en el mercat.

Article 4

Rafael Barbas, Rafel Prohens, Antonio Bauzá, Antonio Franconetti and Antonio Frontera, *H-Bonded anion-anion complexes in fentanyl citrate polymorphs and solvates*, *Chem. Commun*., **2019**, *55*, 115-18. (Material suplementari Apèndix D)

Resum: S'han descobert i estudiat tres estructures cristal·lines del citrat de fentanil que presenten dos tipus d'enllaç H anió-anió diferents. Els càlculs a nivell de DFT indiquen que la formació de complexes anió-anió són termodinàmicament inestables però cinèticament estables degut a la presència d'enllaços d'hidrogen que ajuden a estabilitzar els complexos respecte a la dels anions aïllats.

Patent WO2018/234540A1

Rafel Prohens, Rafael Barbas, Anna Portell, Mariona Palou, Francisca Serra and Andreu Palou *Crystalline forms of Beta-Sitosterol* (**2018**). (Reividicacions Apèndix E)

Resum: Els inventors han trobat noves formes farmacèuticament acceptables del principi actiu nutracèutic beta-sitosterol. S'aporta la caracterització complerta de les noves formes (DSC, TGA i difracció de raigs X) i s'han realitzat estudis de biodisponibilitat en hàmsters.

En paral·lel s'ha participat en quatre publicacions més que estan relacionades amb el disseny i optimització de les metodologies experimentals generals desenvolupades al llarg de la tesi. Tot i que no formen part del gruix de publicacions de la tesi, són resultats que han permès optimitzar els procediments experimentals. (Filiació dels coautors Apèndix F)

Article 6

Lucero-Borja, D., Castilla, O., Barbas, R.; Subirats, X.; Ràfols, C. *Solubility-pH profiles of a free base and its salt: sibutramine as a case study*, *ADMET & DMPK*, **2017**, *5*(4), 253-256.

Article 7

Corner, P. A.; Berry, D. J.; McCabe, J. F.; Barbas, R.; Prohens, R.; Du, H.; Zhoud, H.; Llinas, A. *Property prediction and pharmacokinetic evaluation of mixed stoichiometry cocrystals of zafirlukast, a drug delivery case study, CrystEngComm*, **2018**, *20*, 1346-1351.

Article 8

Barbas, R.; Puigjaner, C.; Prohens, R. *Assembling the Puzzle of Apixaban Solid Forms, Mol. Pharmaceutics,* **2018**, *15*, 1909-1916.

Article 9

Llinas, A.; Barbas, R.; Font-Bardia, M.; Smailagic, A.; Prohens, R. *Derisking Development by a Cocrystallization Screen of a Novel Selective Inhaled JAK-STAT inhibitor*, Cryst. Growth Des., **2019**, *19*, 403-414.

A continuació es presenten les publicacions que conformen els resultats obtinguts durant el transcurs de la tesi.

3.1 Article 1. *Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate*

Crystal Growth & Design, **2018**, 18, 3740-3746

Rafael Barbas,[1] Mercè Font-Bardia[2] and Rafel Prohens[1]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

CRYSTAL GROWTH & DESIGN

Communication

Cite This: Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

pubs.acs.org/crystal

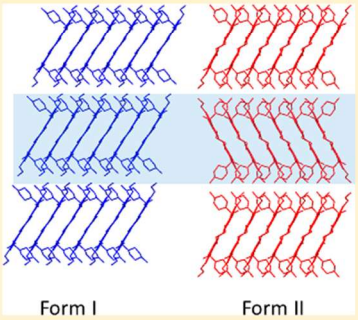
Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate

Rafael Barbas,[†] Mercè Font-Bardia,[§] and Rafel Prohens*[,†]

[†]Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics and [§]Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain

Supporting Information

ABSTRACT: A new anhydrous polymorph of the free base of sildenafil and two solvates (acetonitrile and propanenitrile) have been discovered and fully characterized. The new polymorph can be considered a desolvate of the acetonitrile solvate and is related to the most stable form I by morphotropism. The new polymorph can only be obtained by desolvation of the acetonitrile solvate. Thus, this study is a new example of the importance of this multicomponent family of solid forms in the discovery of new polymorphs of active pharmaceutical ingredients.



1. INTRODUCTION

Active pharmaceutical ingredients (APIs) can exist in addition to polymorphs as solvates, a phenomenon known as pseudopolymorphism.[1] Since APIs are small molecular weight compounds, they tend to form solvates and hydrates where solvent molecules are an integral part of the solid form structure. In particular, water molecules can occupy isolated sites (stoichiometric hydrates) or channels (stoichiometric and nonstoichiometric hydrates).[2] Frequently, the removal of water molecules produces the collapse of the crystal network with the result of an amorphous[3] form or an anhydrous polymorph.[4,5]

Although it has been suggested that 33% of organic compounds can form hydrates but only 10% of them can form solvates,[6] the formation of solvates can have important consequences during the development of an API because they can affect their physicochemical properties such as stability or solubility in relation to the anhydrous form.[7,8] The Cambridge Structural Database (CSD) has been searched in order to study the frequency of solvate formation, and more than 300 different solvent molecules were identified to form a solvate.[9] Moreover, hydrate formation in organic compounds and the important factors determining the high frequency of hydrates have been studied by analyzing the CSD,[10] and statistical models for the prediction of hydrate and solvate formation have been developed.[11]

API solvates are generally prepared by recrystallization, but hydrates may also appear during formulation of a drug while being exposed to air. But while pharmaceutical hydrates are viable forms for drug products because there is no safety concern about water as a crystal adduct, solvates are rarely formulated because of safety concerns due to solvent toxicity.[12,13] However, the phenomenon of pseudopolymorphism can have a significant impact in the development of a pharmaceutical drug since the pharmaceutical drugs are usually in contact with organic solvent during the purification and processing stages.[14] Particularly relevant is the case of sulfathiazole,[15] which forms over 100 solvates.

Usually solvate structures collapse immediately after the removal of the solvent; however, in some cases isomorphic desolvates are formed when the solvent molecules are removed without the collapse of the crystal network and retain most of the packing issues of the parent solvate.[16] Thus, isomorphic desolvates can be regarded as different polymorphs but constitute a specific category of solid forms since they can only be formed by desolvation and stabilized in the absence of solvent molecules.[17] The presence of voids in the desolvate structure is related to its usual tendency to be hygroscopic[18,19] and to a lower stability based on a reduced packing efficiency.[20] In some cases, the desolvation produces very small crystallites that although crystalline at a local level give poorly defined powder X-ray diffraction (PXRD) patterns, which hinder their characterization.[21] Although hydrates and solvates constitute a topic of continuous research interest in the pharmaceutical industry, isomorphic desolvates have been scarcely explored in the crystal engineering field to date.[22] Thus, in this paper we report a new isomorphic desolvate of the free base of sildenafil which is morphotropically related to the known anhydrous form I. The study has been completed with the full characterization of new acetonitrile and propanenitrile solvates of sildenafil, which are key to understanding the role of the solvent in the discovery of the new polymorph of sildenafil.

Received: May 3, 2018
Revised: June 11, 2018
Published: June 12, 2018

ACS Publications © 2018 American Chemical Society

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

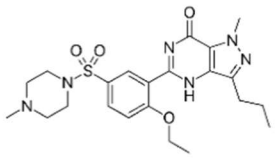


Figure 1. Molecular structure of sildenafil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials. Sildenafil used in this study was of reagent grade and used as received from Polpharma (form I). Anhydrous form II has been obtained by slurring sildenafil (form I) in ACN followed by fast drying under a vacuum (30 min) at 25 °C. ACN solvate (form ACN_I) has been obtained by slow crystallization in ACN after 37 days at 25 °C. ACN solvate (form ACN_{II}) has been obtained after keeping sildenafil (form I) in ACN atmosphere for 2 weeks. Propanenitrile solvate has been obtained by slow crystallization in propanenitrile after 1 day at 25 °C.

2.2. Methods. *2.2.1. X-ray Crystallographic Analysis.* Single crystal X-ray diffraction intensity data of sildenafil form I and acetonitrile solvate form ACN_I were collected using a D8 Venture system equipped with a multilayer monochromator and a Mo microfocus (λ = 0.71073 Å). Frames were integrated with the Bruker SAINT software package using a SAINT algorithm. Data were corrected for absorption effects using the multiscan method (SADABS).[23] The structure was solved and refined using the Bruker SHELXTL Software Package, a computer program for automatic solution of crystal structures and refined by full-matrix least-squares method with ShelXle Version 4.8.0, a Qt graphical user interface for SHELXL computer program.[24]

Powder X-ray diffraction pattern of form II was obtained on a PANalytical X'Pert PRO MPD diffractometer in transmission configuration using Cu Kα1+2 radiation (λ = 1.5406 Å) with a focusing elliptic mirror and a PIXcel detector working at a maximum detector's active length of 3.347°. Configuration of convergent beam with a focalizing mirror and a transmission geometry with flat sample sandwiched between low absorbing films measuring from 2 to 80° in 2θ, with a step size of 0.013° and a total measuring time of 2 h. The powder diffractogram data were perfectly indexed to a orthorhombic cell of about 4954 $Å^3$ by means of Dicvol04,[25] and the space group perfectly was determined to be *Pccn* from the systematic absences. With one independent molecule of sildenafil in the asymmetric unit, Z = 8, the crystal structure was determined by direct space methodologies starting from a molecular model optimized with the commercial software SPARTAN[26] by means of the program FOX[27] with the parallel tempering algorithm. Some constraints were introduced to FOX, considering aromatic rings as rigid groups. Several trials of 20 million runs were performed. The refinement of the structure has been performed by the Rietveld method using FullProf;[28] Figure 2 depicts the final Rietveld plot. The crystal structure of anhydrous form I has been solved at room temperature from single crystal X-ray diffraction (SXRD) in order to compare with form II since the structures deposited at the CSD[29] have been solved at different temperatures. A summary of crystal data and relevant refinement parameters are given in Table 1.

2.2.2. Differential Scanning Calorimetry (DSC). Differential scanning calorimetry analysis were carried out by means of a Mettler-Toledo DSC-822e calorimeter. Experimental conditions: aluminum crucibles of 40 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, heating rate of 10 °C/min. The calorimeter was calibrated with indium of 99.99% purity (m.p.: 156.4 °C, ΔH: 28.55 J/g).

2.2.3. Thermogravimetric Analysis (TGA). Thermogravimetric analyses were performed on a Mettler-Toledo TGA-851e thermobalance. Experimental conditions: alumina crucibles of 70 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, and heating rate of 10 °C/min.

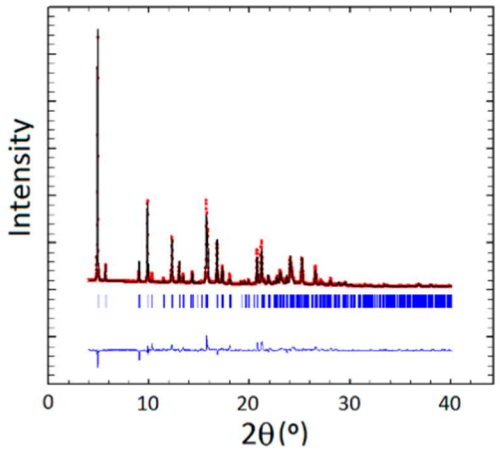


Figure 2. Final Rietveld plot for the crystal structure refinement of sildenafil form II. Agreement factors: R_{wp} = 12.3%, Chi^2 = 4.93. The plot shows the experimental PXRD profile (red marks), the calculated PXRD profile (black solid line), and the difference profile (blue, lower line). Tick marks indicate peak positions.

2.2.4. Dynamic Vapor Sorption (DVS). The water sorption and desorption processes were measured on a DVS-1000 instrument from Surface Measurement Systems. The samples were mounted on a balance and studied over a humidity range from 0% to 90% RH, and then decreased to 0% RH at 25 and 40 °C using a three-cycle method. The equilibrium condition for each step was set to a mass constancy of ±0.001% over 60 min and a maximum time limit of 1440 min for each step.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Sildenafil, the ingredient of Viagra, is the first oral drug used for the medical treatment of erectile dysfunction and has been recently used for the treatment of pulmonary hypertension[30,31] but due to its low water solubility it is generally formulated as sildenafil citrate.[32] The crystal structures of sildenafil base, sildenafil citrate monohydrate, and sildenafil saccharinate have been reported elsewhere.[29] With the aim to study the solid state of this API, we conducted an extensive polymorph screening by using a broad set of thermodynamic and kinetic experimental conditions from a variety of 54 solvents,[33] which produced 98 individual crystalline solids. Six new solvates (toluene, anisole, acetonitrile, propanenitrile, dioxane, and chloroform) and a new polymorph of sildenafil have been discovered, and their crystal structures were solved. The density functional theory (DFT) analysis of toluene, anisole, dioxane, and chloroform solvates is the subject of another research paper, in which the formation of an apparently innocent intramolecular H-bond has a remarkable influence on the solid state architecture of the sildenafil solvates.[34]

During the polymorph screening with 53 out of 54 organic solvents only the known form I or new solvates (as mentioned before) were obtained except when acetonitrile was used. In particular, crystallizing or slurrying in this solvent produced three new solid forms depending on whether the solid obtained was extensively dried or not. When the solid obtained by slurrying sildenafil in acetonitrile was dried under a vacuum, an anhydrous new form (form II) was obtained, but if the solid was only filtered and directly analyzed without further drying, a new solvate (form ACN_{II}) was produced with 2:1 sildenafil/acetonitrile stoichiometry (deduced from TGA, Figure S10).

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

Table 1. Crystal Data and Structure Refinement Parameters for the Different Forms of Sildenafil

structure	form I	form II	acetonitrile solvate form ACN_I	propanenitrile solvate
empirical formula	$C_{22}H_{30}N_6O_4S$	$C_{22}H_{30}N_6O_4S$	$C_{24}H_{33}N_7O_4S$	$C_{25}H_{35}N_7O_4S$
formula weight	474.58	474.58	515.63	529.66
temperature (K)	302(2)	298(2)	293(2)	100(2)
wavelength (Å)	0.71073	1.5406	0.71073	0.71073
crystal system	monoclinic	orthorhombic	orthorhombic	monoclinic
space group	*P*21/*c*	*Pccn*	*Pccn*	*P*21/*c*
a, *b*, *c* (Å)	17.301(4)	35.713(1)	17.0918(16)	19.3079(9)
	17.072(3)	17.0949(4)	37.876(4)	14.8253(6)
	8.3324(17)	8.1146(1)	7.9351(7)	9.2680(4)
α, β, γ (deg)	90	90	90	90
	99.222(8)	90	90	90.720(2)
	90	90	90	90
volume (Å^3)	2429.3(9)	4954.0(2)	5136.9(9)	2652.7(2)
Z, density (calc) (Mg/m^3)	4, 1.298	8, 1.273	8, 1.333	4, 1.326
absorption coefficient (mm^{-1})	0.173		0.171	0.167
F(000)	1008		2192	1128
crystal size (mm^3)	0.275 × 0.140 × 0.108		0.236 × 0.148 × 0.066	0.222 × 0.124 × 0.073
θ range for data collection (deg)	2.386 to 26.345	2.0 to 80 step 0.026 (2θ)	2.383 to 26.435	2.518 to 26.452
limiting indices	$-21 \le h \le 21$		$-18 \le h \le 21$	$-24 \le h \le 24$
	$-21 \le k \le 21$		$-38 \le k \le 47$	$-18 \le k \le 18$
	$-10 \le l \le 10$		$-9 \le l \le 9$	$-11 \le l \le 11$
reflections collected/unique	39306/4943 [*R*(int) = 0.1201]		26368/5240 [*R*(int) = 0.1755]	50725/5407 [*R*(int) = 0.0555]
completeness to θ = 25.242° (%)	99.9		99.8	99.0
absorption correction	semiempirical from equivalents		semiempirical from equivalents	semiempirical from equivalents
max and min transmission	0.7454 and 0.6855		0.7454 and 0.5871	0.7454 and 0.6943
refinement method	full-matrix least-squares on F^2	Rietveld	full-matrix least-squares on F^2	full-matrix least-squares on F^2
data/restraints/parameters	4943/0/310	3712/66/10	5240/0/346	5407/0/342
goodness-of-fit on F^2	1.016		0.999	1.035
final *R* indices [$I > 2\sigma(I)$]	R_1 = 0.0543, wR_2 = 0.1075	R_{wp} = 12.3	R_1 = 0.0838, wR_2 = 0.1638	R_1 = 0.0446, wR_2 = 0.1040
R indices (all data)	R_1 = 0.1327, wR_2 = 0.1336	Chi2 = 4.93	R_1 = 0.2017, wR_2 = 0.2077	R_1 = 0.0603, wR_2 = 0.1128
largest diff. peak and hole (e·Å^{-3})	0.176 and −0.295		0.383 and −0.328	1.59 and −0.702
CCDC	1821370	1832582	1821373	1821372

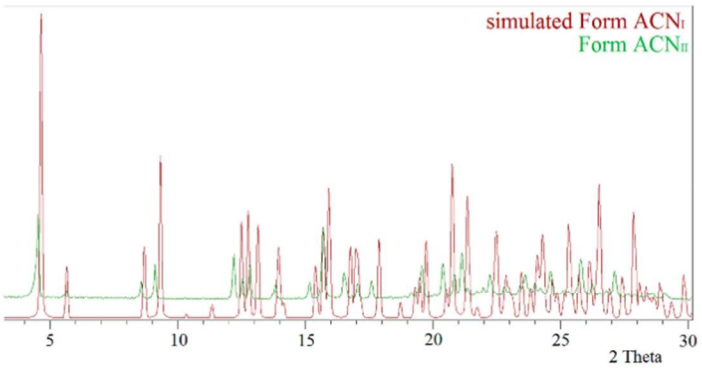


Figure 3. PXRD diagrams of acetonitrile solvates form I (simulated from crystal structure) and II.

Moreover, needles of a different acetonitrile solvate with 1:1 sildenafil/acetonitrile stoichiometry were obtained (solvate form ACN_I) by slow evaporation of an acetonitrile solution of sildenafil at room temperature, and its crystal structure was solved by SXRD analysis. The PXRD diffractogram of solvate form ACN_{II} was indexed (Figure S13) at room temperature, and its stoichiometry was deduced from TGA (Figure S10). The two solvates show a very similar PXRD diagram and cell parameters, which suggests that both solvates can be isostructural, Figure 3. See Supporting Information for further detail.

The DSC of sildenafil form II shows two overlapped endothermic/exothermic phenomena prior to the melting of form I (Figure 4), while modulated DSC (Figure S8, Supporting Information) shows in the reversing signal an increase of heat capacity without melting followed by an exothermic broad peak in the nonreversing signal, suggesting that form II transforms into form I upon heating through a two-step process involving a glass-like solid. On the other

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

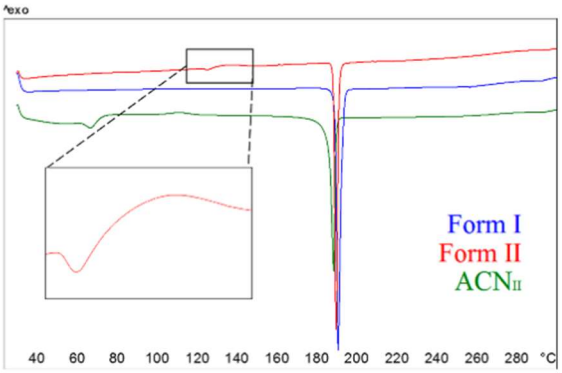


Figure 4. DSC thermograms of anhydrous forms I (mp onset: 189 °C; enthalpy: 87.1 J/g) and II (mp onset: 188 °C; enthalpy: 92.4 J/g) and solvate form ACN$_{II}$ (mp onset: 184 °C; enthalpy: 75.6 J/g) of sildenafil.

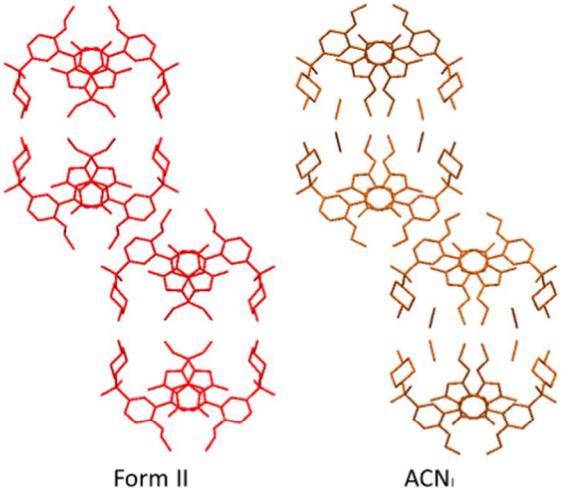


Figure 5. Crystal structures of anhydrous form II and ACN solvate form ACN$_I$.

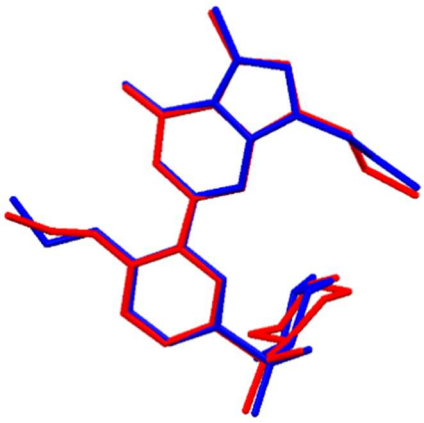


Figure 6. Overlap of sildenafil molecules of anhydrous forms I (blue) and II (red). The computed RMSD is 0.338 Å.

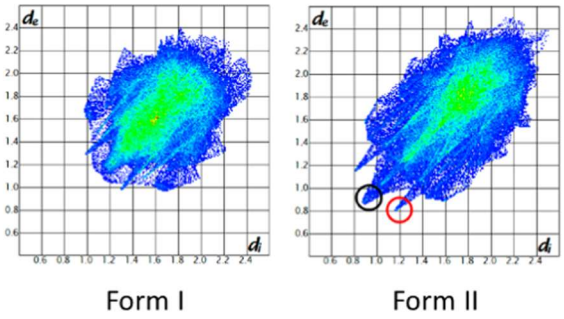


Figure 7. Fingerprint plots computed from Hirshfeld surfaces of form I (left) and form II (right). Strong H···O contacts are highlighted in red and H···H contacts in black.

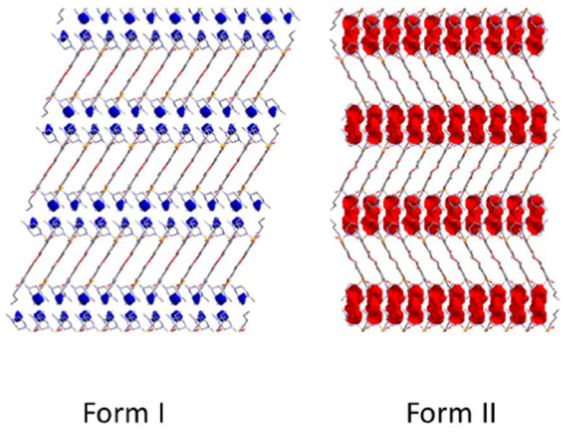


Figure 8. Calculated voids of anhydrous forms of sildenafil.

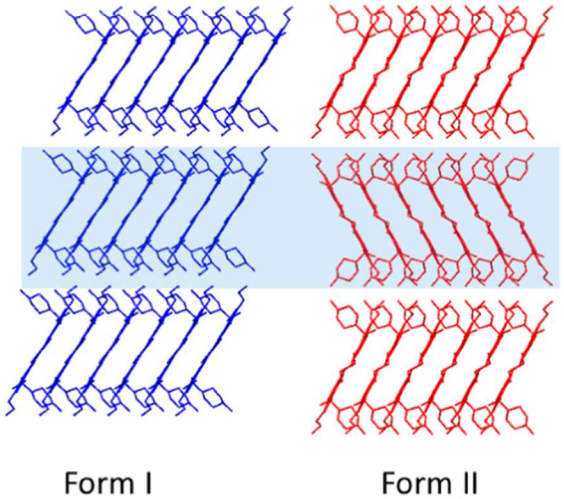


Figure 9. Packing in the *b* axis direction showing the layer involved in a noncrystallographic inversion center.

hand, desolvation of solvate form ACN$_{II}$ by air drying at room temperature produced the new anhydrous form II, while DSC of solvate form ACN$_{II}$ showed a melting point, which is 5 °C lower than form I, probably due to lower crystallinity of the

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

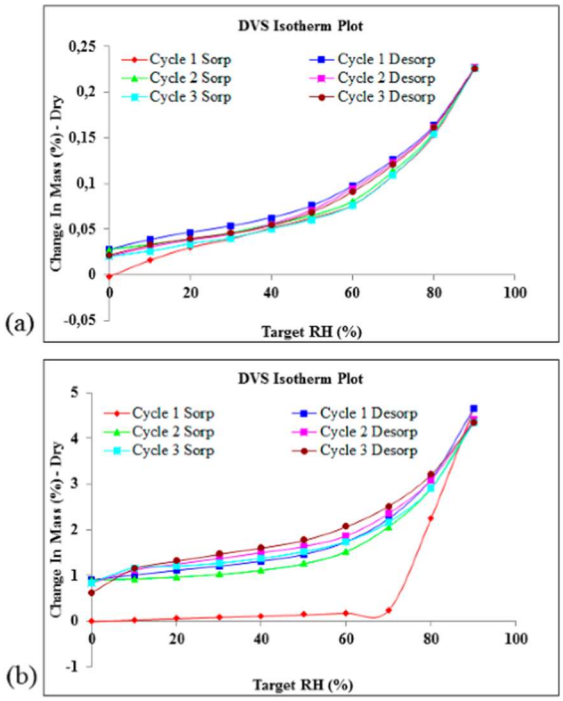


Figure 10. Dynamic vapor sorption isotherms of form I (a) and form II (b) at 25 °C.

sample after desolvation and recrystallization (Figures 4, S9 and S10).

The crystal structure of the new anhydrous form II was solved by means of direct space strategies from PXRD data, and the analysis of the crystal structures reveals that anhydrous form II is an isomorphic desolvate of the new acetonitrile solvate form ACN_I. Figure 5 shows that the only significant difference between both forms is the more opened conformation of the propyl groups in the desolvate which cannot completely fill the voids left by the removed solvent.

The fact that anhydrous form II has only been detected in 1 out of 54 solvents can explain why new anhydrous form II has not been previously reported in the literature and points out an important conclusion of this work as it will be discussed later.

The crystal structures of the two anhydrous forms at room temperature have been compared, and a careful analysis of the packing reveals that the asymmetric unit independent molecules of both forms establish the same strong intramolecular hydrogen bond between the ethoxy oxygen and the pyrimidine nitrogen. Thus, the observed differences can be considered as conformational adjustments of the same gas-phase conformer, according to the cutoff value proposed by Cruz-Cabeza and Bernstein in their analysis of conformational polymorphism[35] since the root-mean-square distance (RMSD) value computed using Mercury is less than 0.375 Å. Among the observable conformational adjustments, the most relevant one involves the propyl groups, Figure 6.

This can be better visualized through the fingerprint plots[36,37] from Hirshfeld surfaces.[38] Although the essential features of the intermolecular atom−atom contacts are very similar, in form II the H···H contacts (highlighted with a black circle in Figure 7) are much shorter than in form I as a consequence of the necessary folding of the propyl groups to maintain free the cavity previously occupied by the acetonitrile molecules in the solvate. In acetonitrile solvate ACN_I the short H···H contacts were already present, and while anhydrous form I has a more extended configuration with less short H···H contacts the desolvate form II keeps much of the parent structure of the ACN_I solvate, which explains why the short H···H contacts are also present in form II (see Tables 1 and 2 of Supporting Information). These interatomic contacts are presumably repulsive according to the accepted van der Waals diameter of the hydrogen atom (1.1−1.2 Å). However, only a small number of organic crystal structures have been reported with H···H interatomic distances lower than 2.2 Å,[39] which are associated with repulsive forces to preserve the internal equilibrium in the crystal structure,[40] as appears to be the case of anhydrous form II and solvate form ACN_I. See Supporting Information for further detail.

The most important consequence of anhydrous form II being an isomorphic desolvate of acetonitrile solvate is that there are bigger finite voids (rather than interconnected channels) than in form I. These have been calculated using the contact surface model using Mercury with a probe of 0,88 Å radius and shown in Figure 8. Since crystal structures of anhydrous form I and solvate ACN_I have been solved at room temperature, there is disorder on the propyl groups (not present at 100 K, data not shown), which can be explained

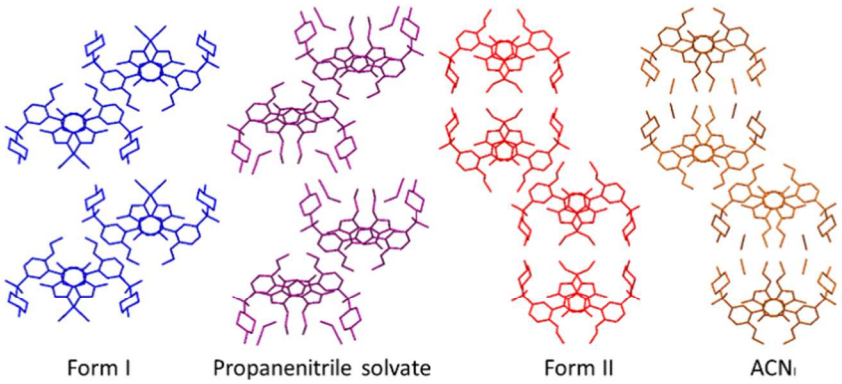


Figure 11. Crystal structures of anhydrous form I, propanenitrile solvate, anhydrous form II, and acetonitrile solvate form ACN_I.

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

based on the fact that propyl groups do not establish strong intermolecular interactions with the surrounding atoms. This disorder is also probably present in anhydrous form II because the voids are bigger; however since the structure has been solved by direct space methods from PXRD, the disorder cannot be directly measured.

On the other hand, the intermolecular contacts in both forms are very similar to hydrogen-bonded zigzag chains formed between the carbonylic oxygen and the aromatic protons. Moreover, the same self-assembled dimers are formed through weak hydrogen bonds between the sulfoxide oxygens and ethyl groups, and finally the same stacked configuration between aromatic rings are also observed. However, an important packing difference is present as a consequence of a noncrystallographic inversion center in one of every three layers (highlighted in Figure 9) in form II with respect to form I. Thus, forms I and II can be considered morphotropic polymorphs since a noncrystallographic rearrangement transforms one form into the other.[41]

In spite of the considerable research conducted with solvated drugs, the mechanisms that explain the solvate formation are still unclear. However, two different mechanisms (or a combination of both) in which solvent molecules incorporate into the crystal lattice have been postulated: solvent molecules can provide extra intermolecular interactions (a) and/or they help to decrease voids in the crystal (b).[42] In order to assess the stability of the less dense anhydrous form II, the potential to absorb water and acetonitrile of both anhydrous forms has been tested. DVS experiments have been performed, and they show that form I only absorbs 0.23 and 0.73% moisture at 25 and 40 °C respectively, while form II absorbs 4.64 and 1.36% moisture at 25 °C (Figure 10) and 40 °C respectively (see Supporting Information for further detail). The fact that form II absorbs more water than form I when exposed to high relative humidity can be due to the presence of bigger voids in form II that attract more water by capillary condensation. The formation of new hydrates has not been detected by PXRD analysis of the resulting samples after the DVS experiments. Moreover, a low percentage of form I was detected in the sample which was initially form II, which suggests a water-assisted phase transition, as has been shown for paracetamol.[43]

On the other hand, when exposed to acetonitrile vapors, both anhydrous forms convert into solvate form ACN_{II} but not to solvate form ACN_{I}, which suggests that the 1:1 acetonitrile solvate is formed through a dissolution/recrystallization process, while the 2:1 acetonitrile solvate is formed by solvent diffusion.

Finally, a new propanenitrile solvate was discovered during the solid forms screening. Interestingly, although acetonitrile and propanenitrile only differ in one methylene group, the crystal structures of both solvates are dramatically different, with the structure of the propanenitrile solvate resembling that of anhydrous form I (Figure 11). Desolvation under a vacuum of the propanenitrile solvate produced anhydrous form I, an expected outcome due to the packing similarity between both forms.

4. CONCLUSIONS

In summary, we have discovered a new anhydrous form of sildenafil (form II) which is a desolvate of a new 1:1 acetonitrile solvate. Both anydrous forms are morphotropically related, and the presence of voids in form II are created by desolvation of the acetonitrile solvate. Although 54 organic solvents have been tested during the solid forms, screening the new polymorph is only obtained when acetonitrile is used. Thus, this study highlights the importance of intensive solvate screening during early stages of a polymorph/cocrystal screen of APIs because some solvates can be precursors and provide the key to the discovery of potential metastable polymorphs that otherwise would remain unknown.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683.

DSC, TGA, and DVS curves of anhydrous forms and acetonitrile solvate. Hirshfeld analysis of anhydrous forms. Cell indexation of ACN solvate form II (PDF)

Accession Codes

CCDC 1821370, 1821372−1821373, and 1832582 contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif, or by emailing data_request@ccdc.cam.ac.uk, or by contacting The Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: rafel@ccit.ub.edu.

ORCID

Rafel Prohens: 0000-0003-0294-1720

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ REFERENCES

(1) Healy, A. M.; Worku, Z. A.; Kumar, D.; Madi, A. M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2017**, *117*, 25−46.

(2) Braun, D. E.; Griesser, U. J. Stoichiometric and Non-stoichiometric Hydrates of Brucine. *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 6111−6121.

(3) Saleki-Gerhardt, A.; Stoweell, J. G.; Byrn, S. R.; Zografi, G. Hydration and dehydration of crystalline and amorphous forms of raffinose. *J. Pharm. Sci.* **1995**, *84* (3), 318−323.

(4) Braun, D. E.; Koztecki, L. H.; McMahon, J. A.; Price, S. L.; Reutzel-Edens, S. M. Navigating the Waters of Unconventional Crystalline Hydrates. *Mol. Pharmaceutics* **2015**, *12*, 3069−3088.

(5) Raijada, D.; Bond, A. D.; Larsen, F. H.; Cornett, C.; Qu, H.; Rantanen, J. Exploring the Solid-Form Landscape of Pharmaceutical Hydrates: Transformation Pathways of the Sodium Naproxen Anhydrate-Hydrate System. *Pharm. Res.* **2013**, *30*, 280−289.

(6) Henck, J. O.; Griesser, U. J.; Burger, A. Polymorphie von Arzneistoffen: Eine wirtschaftliche Herausforderung? *Pharm. Ind.* **1997**, *59*, 165−169.

(7) Vippagunta, S. R.; Brittain, H. G.; Grant, D. J. Crystalline solids. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *48*, 3−26.

(8) Byrn, S. R.; Pfeiffer, R. R.; Stowell, J. G. *Solid-State Chemistry of Drugs*, 2nd ed.; SSCI Inc.: West Lafayette, Ind: 1999.

(9) Görbitz, C. H.; Hersleth, H. P. On the inclusion of solvent molecules in the crystal structures of organic compounds. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **2000**, *56*, 526−534.

(10) Infantes, L.; Fábián, L.; Motherwell, W. D. S. Organic crystal hydrates: what are the important factors for formation. *CrystEngComm* **2007**, *9*, 65−71.

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

(11) Takieddin, K.; Khimyak, Y. Z.; Fábián, L. Prediction of Hydrate and Solvate Formation Using Statistical Models. *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 70−81.
(12) Byrn, S. R.; Zografi, G.; Chen, X. *Solid-State Properties of Pharmaceutical Materials*; John Wiley & Sons, 2017;.
(13) Threlfall, T. Polymorphs, Solvates and Hydrates. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*; John Wiley & Sons, 2006.
(14) Berziņš, A.; Skarbulis, E.; Rekis, T.; Actiņš, A. On the Formation of Droperidol Solvates: Characterization of Structure and Properties. *Cryst. Growth Des.* **2014**, *14*, 2654−2664.
(15) Bingham, A. L.; Hughes, D. S.; Hursthouse, M. B.; Lancaster, R. W.; Tavener, S.; Threlfall, T. L. Over one hundred solvates of sulfathiazole. *Chem. Commun.* **2001**, *0*, 603−604.
(16) Byard, S.; Abraham, A.; Boulton, P. J. T.; Harris, R. K.; Hodgkinson, P. A multi-technique approach to the study of structural stability and desolvation of two unusual channel hydrate solvates of finasteride. *J. Pharm. Sci.* **2012**, *101*, 176−186.
(17) Lee, D. C.; Webb, M. L. *Pharmaceutical Analysis*; Wiley-Blackwell, 2009.
(18) Hilfiker, R. *Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry*; Wiley-VCH, 2006.
(19) Brittain, H. G. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, 2nd ed.; Informa Healthcare USA, Inc., 2009.
(20) Kitaigorodskii, A. I. The Principle of Close Packing and the Condition of Thermodynamic Stability of Organic Crystals. *Acta Crystallogr.* **1965**, *18*, 585−590.
(21) Apperley, D. C.; Markwell, A. F.; Frantsuzov, I.; Ilott, A. J.; Harris, R. K.; Hodgkinson, P. NMR characterisation of dynamics in solvates and desolvates of formoterol fumarate. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 6422−6430.
(22) Stephenson, G. A.; Groleau, E. G.; Kleemann, R. L.; Xu, W.; Rigsbee, D. R. Formation of isomorphic desolvates: Creating a molecular vacuum. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 536−542.
(23) *SADABS Bruker AXS*; Madison, Wisconsin, USA, 2004. *SAINT, Software Users Guide*, Version 6.0; Bruker Analytical X-ray Systems: Madison, WI, 1999. Sheldrick, G. M. *SADABS v2.03: Area-Detector Absorption Correction*; University of Göttingen: Germany, 1999. *SAINT*, Version 7.60A; Bruker AXS, 2008. *SADABS*, V. 2008-1, 2008.
(24) Sheldrick, G. M. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **2008**, *64*, 112−122.
(25) Boultif, A.; Louër, D. Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method. *J. Appl. Crystallogr.* **1991**, *24*, 987−993.
(26) *Spartan'10*; Wavefunction Inc., Irvin, CA.
(27) Favre-Nicolin, V.; Černý, R. FOX, 'free objects for crystallography': a modular approach to ab initio structure determination from powder diffraction. *J. Appl. Crystallogr.* **2002**, *35*, 734−743.
(28) Rodriguez-Carvajal, J. Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction. *Phys. B* **1993**, *192*, 55−69.
(29) Stepanovs, D.; Mishnev, A. Molecular and Crystal Structure of Sildenafil Base. *Z. Naturforsch., B: J. Chem. Sci.* **2012**, *67*, 491−494 CSD code QEGTUT.
(30) Barnett, C. F.; Machado, R. F. Sildenafil in the treatment of pulmonary hypertension. *Vasc Health Risk Manag.* **2006**, *2* (4), 411−422.
(31) Galiè, N.; Hoeper, M. M.; Humbert, M.; Torbicki, A.; Vachiery, J. L.; Barbera, J. A.; Beghetti, M.; Corris, P.; Gaine, S.; Gibbs, J. S.; Gomez-Sanchez, M. A.; Jondeau, G.; Klepetko, W.; Opitz, C.; Peacock, A.; Rubin, L.; Zellweger, M.; Simonneau, G. ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur. Heart J.* **2009**, *30* (20), 2493−2537.
(32) Jung, S. Y.; Seo, Y. G.; Kim, G. K.; Woo, J. S.; Yong, C. S.; Choi, H. G. Comparison of the solubility and pharmacokinetics of sildenafil salts. *Arch. Pharmacal Res.* **2011**, *34* (3), 451−454.
(33) Methanol, ethanol, IPA, butanol, 1-propanediaol, glycerol, ethylene glycol, 2-methoxyethanol, 1-propanol, 1-pentanol, 1-octanol, 2,2,2-trifluoroethanol, benzyl alcohol, ACN, propionitrile, MEK, acetone, MiBK, water, DMF, DMSO, pentane, heptane, cyclohexane, hexane, methylcyclohexane, toluene, xylene, mesitylene, anisole, 2-nitrotoluene, nitrobenzene, AcOEt, isopropyl acetate, diethylether, THF, 1-methyl-2-pyrrolidone, dimethyl ethylene glycol, diisopropyl ether, dioxane, iodomethane, dichloromethane, 1,2-dichlorothane, chloroform, 1,1,1-trichloroethane, 1,1,2-trichloroethane, formic acid, acetic acid, trifluoroacetic acid, propanoic acid, NH3 (32%) in water, diethylamine, trimethylamine, and pyridine.
(34) Barbas, R.; Prohens, R.; Font-Bardia, M.; Bauza, A.; Frontera, A.; Prohens, R. Hydrogen bonding versus π−interactions: their key competition in sildenafil solvates. *CrystEngComm* **2018**, in press.
(35) Cruz-Cabeza, A. J.; Bernstein, J. Conformational Polymorphism. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (4), 2170−2191.
(36) Spackman, M. A.; Mckinnon, J. J. Fingerprinting intermolecular interactions in molecular crystals. *CrystEngComm* **2002**, *4*, 378−392.
(37) Mckinnon, J. J.; Jayatilaka, D.; Spackman, M. A. Towards quantitative analysis of intermolecular interactions with Hirshfeld surfaces. *Chem. Commun.* **2007**, *0*, 3814−3816.
(38) Spackman, M. A.; Jayatilaka, D. Hirshfeld surface analysis. *CrystEngComm* **2009**, *11*, 19−32.
(39) Rowland, R. S.; Taylor, R. Intermolecular Nonbonded Contact Distances in Organic Crystal Structures: Comparison with Distances Expected from van der Waals Radii. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 7384−7391.
(40) Dunitz, J. D.; Gavezzotti, A. Attractions and Repulsions in Molecular Crystals: What Can Be Learned from the Crystal Structures of Condensed Ring Aromatic Hydrocarbons? *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32* (8), 677−684.
(41) Kalman, A. Morphotropism: link between the isostructurality, polymorphism and (stereo)isomerism of organic crystals. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **2005**, *61*, 536−547.
(42) Price, C. P.; Glick, G. D.; Matzger, A. J. Dissecting the Behavior of a Promiscuous Solvate Former. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 2062−2066.
(43) Kachrimanis, K.; Fucke, K.; Noisternig, M.; Siebenhaar, B.; Griesser, U. J. Effects of Moisture and Residual Solvent on the Phase Stability of Orthorhombic Paracetamol. *Pharm. Res.* **2008**, *25*, 1440−1449.

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 3740−3746

3.2 Article 2. *Hydrogen bonding versus π-interactions: their key competition in sildenafil solvates*

Crystal Engineering Communications, **2018**, 20, 4526-4530

Rafael Barbas,[1] Rafel Prohens,[1] Mercè Font-Bardia,[2]
Antonio Bauzá[3] and Antonio Frontera[3]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[3] *Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma (Baleares), Spain.*

Volume 20 | Number 32 | 28 August 2018 | Pages 4517–4704

CrystEngComm

rsc.li/crystengcomm



ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

COMMUNICATION
Rafel Prohens, Antonio Frontera *et al.*
Hydrogen bonding *versus* π-interactions: their key competition in sildenafil solvates

CrystEngComm

COMMUNICATION

View Article Online
View Journal | View Issue

Check for updates

Cite this: *CrystEngComm*, 2018, **20**, 4526

Received 10th April 2018,
Accepted 22nd June 2018

DOI: 10.1039/c8ce00567b

rsc.li/crystengcomm

Hydrogen bonding *versus* π-interactions: their key competition in sildenafil solvates†

Rafael Barbas,[a] Rafel Prohens,*[a] Mercè Font-Bardia,[b] Antonio Bauzá[c] and Antonio Frontera*[c]

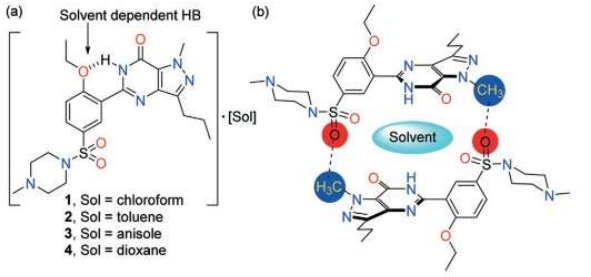
Herein we report the X-ray characterization of four sildenafil solvates where the conformation of the pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine and phenyl rings depends on the solvent. It conditions the formation of an apparently innocent intramolecular H-bond that has a remarkable influence on the solid state architecture of the sildenafil solvates. DFT calculations indicate that a delicate balance between the energies of H-bonding and π–π (or lp–π) interactions are crucial.

A deep comprehension of weak interactions is essential to expand the field of supramolecular chemistry to new applications. For example, understanding the role of the solvent in the formation of crystals or co-crystals is a stimulating matter. Recently, it has been demonstrated that the formation of different types of co-crystals is related to the nature of the solvent, as it has been rationalized by comparing the strength of hydrogen and halogen bonding interactions.[1] In this context, understanding the solid-state characteristics of drug substances is very important for the pharmaceutical industry. In particular, solvates of a drug substance can have significant consequences for storage, control or product performance.[2]

Sildenafil, 5-[2-ethoxy-5-(4-methylpiperazin-1-yl) sulfonylphenyl]-1-methyl-3-propyl-6*H*-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidin-7-one, improves penile erections in men with erectile dysfunction by selectively inhibiting the cGMP-specific phosphodiesterase type 5.[3] The crystal structures of sildenafil citrate monohydrate and a sildenafil base have been reported.[4,5] Moreover, sildenafil salts with saccharine[6] and oxalic, fumaric, succinic and glutaric acids and co-crystals with adipic, pimelic, suberic and sebacic acids are also available.[7] Furthermore, the co-crystals of sildenafil with acetylsalicylic acid and its salicylate salt have been recently characterized in an effort to combine an agent for preventing heart attacks and strokes with a drug that is contraindicated for men suffering from cardiovascular diseases.[8]

The study of the solid-state properties of solvates[9] is of great importance since the presence of a solvent in the crystal gives them unique properties. For instance, the solubility and concomitant dissolution rate of a solvate are frequently different from those of the corresponding non-solvate affecting the bioavailability of the drug.[10] In some cases, the solvent molecules are essential components of the packing, and in other cases, they simply occupy void spaces,[11] and in this sense, we have recently shown that a new polymorph of sildenafil can be only obtained from the desolvation of an acetonitrile solvate.[12] Since most of the drugs are administered as solid, the functioning of the final product can be modified. This obviously has a huge commercial impact at all stages of the active pharmaceutical ingredient development.

In this communication, we report four new solvates of sildenafil (Sil) (see Scheme 1) that consist of co-crystals of a Sil base with chloroform, toluene, anisole and dioxane.‡ We paid attention to the intramolecular H-bond that maintains



Scheme 1 (a) Structure of compounds **1**–**4**. (b) Self-assembled dimer.

[a] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain. E-mail: rafel@ccit.ub.edu*
[b] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Spain*
[c] *Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma (Baleares), Spain. E-mail: toni.frontera@uib.es*

† Electronic supplementary information (ESI) available: Experimental protocols and DFT calculation details. CCDC 1821371, 1821374, 1832572 and 1832573. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c8ce00567b

This journal is © The Royal Society of Chemistry 2018

the co-planarity of the pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine and phenyl rings (see Scheme 1a). We found that this H-bond is solvent dependent and its rupture has a strong influence in the crystal packing. Remarkably, there are 25 X-ray structures containing sildenafil in the CSD (salts and/or solvates) and all of them exhibit the intramolecular N–H···O H-bond between the pyrimidine ring and the ethoxy substituent of the phenyl ring (see the full list of CSD codes in Table S1†). In 24 out of the 25 structures, the pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine and phenyl rings are coplanar, and in only one case, (hydrogen fumarate salt) the phenyl ring is slightly rotated (28°) with the N–H···O H-bond nevertheless present. Herein, for the first time, aromatic solvents (toluene and anisole) are used to generate solvates of sildenafil. Quite remarkably, these solvents are able to disrupt the intramolecular H-bonds facilitating the formation of self-assembled receptors (see Scheme 1a) which are capable of encapsulating the aromatic solvent due to the formation of electrostatically enhanced π-stacking interactions as evidenced by DFT calculations.

Partial crystal data details are given in Table 1 (see the ESI† for the complete crystal-data details). The X-ray structures of solvates **1** (sildenafil–chloroform) and **2** (sildenafil–toluene) are shown in Fig. 1 and that of **3** in Fig. S1† along with the rotational angles. In solvates **2** and **3**, the toluene and anisole molecules lie disordered about the inversion centre. It can be observed that the pyrimidine and phenyl rings are coplanar in **1** and almost perpendicular in **2** (same behaviour in sildenafil–anisol **3** and sildenafil–dioxane **4**, *vide infra*). Compounds **2**, **3** and **4** are essentially isomorphous with very similar intermolecular N3–H3···N2* H-bonding (* = x, 3/2 − y, 1/2 + z), as further explained below. We have optimized the sildenafil base using the coplanar conformation and its rotamer (at 90°, see Fig. S2†) and the energetic difference is 5.0 kcal mol^{-1} which approximately counts for the strength of the intramolecular H-bond. The solid state architecture of compound **1** compared to that of the published form[5] of sildenafil is shown in Fig. 2. In both compounds, the crystal packing is basically dominated by the formation of π-stacking interactions due to the large aromatic surface provided by the coplanarity of the pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine and phenyl rings. The presence of the chloroform molecule

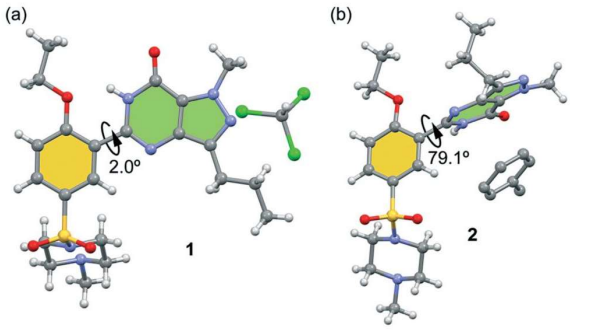


Fig. 1 X-ray structure of compounds **1** (a) and **2** (b) with the rotational angles indicated.

in the structure only changes the parallel arrangement of the π-stacked columns to a zigzag disposition.

In sharp contrast to the solid state architectures observed for the published sildenafil-based structures and solvate **1**, the toluene and anisole solvates exhibit a totally different structure. Self-assembly dimers are formed in the solid states of **2** and **3** that generate a cavity suitable for interacting with the aromatic solvent, as detailed in Fig. 3. The aromatic solvent is able to disrupt the otherwise ordered 3D architectures of **1** and non-solvated sildenafil since it provides the possibility to establish electrostatically enhanced π–π interactions that are able to compensate for the breakage of the intramolecular H-bond and the π-stacking interactions between the extended π-systems of sildenafil as highlighted in Fig. 2.

In addition, the intramolecular NH···O bond is replaced by an intermolecular NH···N bond involving the N-atom of the piperazine ring as the H-bond acceptor in solvates **2**–**4** (see Fig. 4). Moreover, in Fig. 4, we have indicated the geometric features of the H-bond in the solvates and in the DFT optimized dimer. In the DFT-optimized H-bonded dimer, the distance is longer than that in the X-ray structures, likely due to the fact that the crystal packing effects are not reflected in the calculations. The interaction energy of the complex is ΔE_{HB} = −6.3 kcal mol^{-1}, slightly stronger than that of the intramolecular H-bond in line with the higher basicity of the tertiary amine group. This intermolecular H-bond further contributed

Table 1 Crystallographic data and refinement details of solvates **1**–**4**

Structure	1	2	3	4
Empirical formula	$C_{23}H_{31}Cl_3N_6O_4S$	$C_{51}H_{68}N_{12}O_8S_2$	$C_{51}H_{68}N_{12}O_9S_2$	$C_{24}H_{34}N_6O_5S$
Formula weight	593.95	1041.29	1057.29	518.63
Temperature (K)	301(2)	100(2)	100(2)	100(2)
Wavelength (Å)	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073
Crystal system	Orthorhombic	Monoclinic	Monoclinic	Monoclinic
Space group	*Pbca*	$P2_1/c$	$P2_1/c$	$P2_1/c$
a, b, c (Å)	16.3399(7), 8.5767(3), 40.1148(16)	14.8287(6), 14.3781(6), 12.7277(5)	14.8822(7), 14.2697(7), 12.842(6)	15.6055(5), 13.5523(4), 12.5064(4)
α, β, γ (°)	90, 90, 90	90, 106.4830(10), 90	90.0, 106.409(2), 90.0	90, 106.3620(10), 90
Volume (Å^3)	5621.8(4)	2602.13(18)	2610.4(2)	2537.86(14)
Z, δ (calc.) Mg m^{-3}	8, 1.403	2, 1.329	2, 1.345	4, 1.357
CCDC	1832572	1821374	1821371	1832573

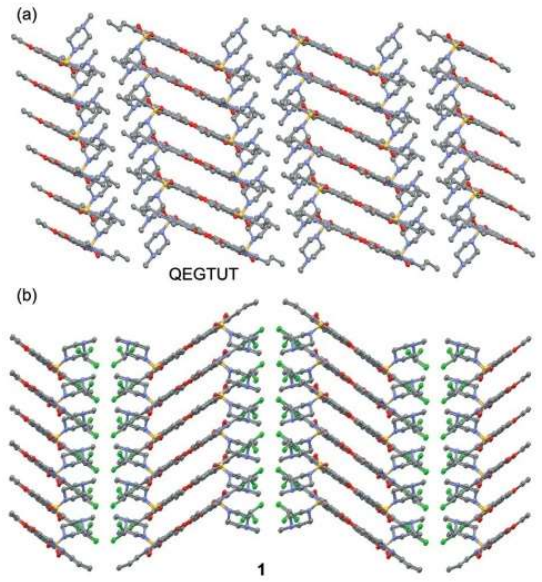


Fig. 2 Crystal packing of QEGTUT (a) and solvate **1** (b).

to the stabilization of solvates **2**–**4** complementing the π-stacking interactions shown in Fig. 3.

The variations in the electronic distribution of the molecular entities are the origin of attractive and repulsive electrostatic intermolecular forces. The solid state architecture of the compounds comes from a compromise between repulsive and attractive forces. In this sense, the geometry adopted by the different assemblies that can be found in X-ray structures tends to maximize the complementarity between the electron rich and electron poor regions of two or more molecules. In order to determine the electron rich and poor regions of sildenafil, we have computed the molecular electrostatic potential (MEP) values and plotted them onto the van der Waals surface (see Fig. 5). The most negative region is located on the sulfoxide group and the most positive one on the H-atoms of the ethoxy substituent. Moreover, the H-atoms of the methyl substituent of the pyrazolo ring are also positive (+17 kcal

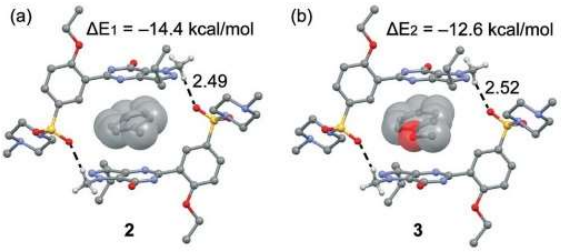


Fig. 3 Self-assembled dimers observed in the solid states of solvates **2** (a) and **3** (b). The binding energies of the aromatic guest with the supramolecular receptor are also given. Distances are in Å. H-Atoms are omitted for clarity apart from those that belong to the methyl groups. The guest is represented as a space-filling model with 70% transparency.

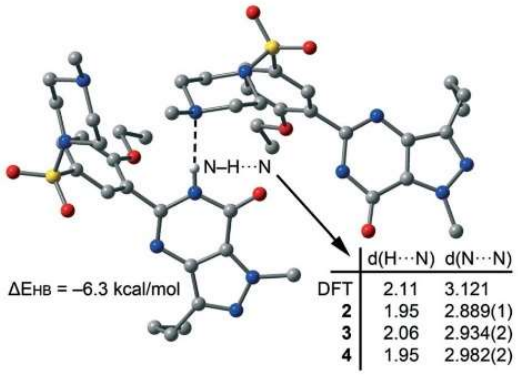


Fig. 4 Optimized dimer of sildenafil and some geometric features of the intermolecular H-bond observed in the solid states of solvates **2**–**4**. Distances are in Å. H-Atoms are omitted for clarity apart from NH.

mol^{-1}). An interesting feature is that the pyrimidine ring exhibits a positive MEP value over the center of the ring. Even more remarkably, if the MEP surface is computed for the 90° rotated conformation (see ESI,† Fig. S3), the MEP value at the pyrimidine ring increases from 5 to 8 kcal mol^{-1}, thus enhancing the π-acidity of the ring. Therefore, the formation of π–π stacking interactions with electron rich aromatic rings is favored. This likely explains the formation of the assemblies shown in Fig. 3 when electron rich aromatic solvents like anisole and toluene are involved. We have computed the interaction energies of the cage with the aromatic solvents, which are ΔE_1 = −14.4 kcal mol^{-1} for toluene and ΔE_2 = −12.6 kcal mol^{-1} for anisole. These large interaction energies are due to the formation of two enhanced π–π stacking interactions and additional van der Waals interactions with the other groups of the cavity (*vide infra*). The formation energy of the cage itself (two C–H···O H-bonds) is −6.0 kcal mol^{-1}, which is not able to compensate for the destabilization energy due to the disruption of two intramolecular H-bonds. However, this is largely compensated by the host–guest interaction.

Encouraged by these results, we envisaged the utilization of electron rich solvents (lone pair donors) and investigate if they are also able to provoke the formation of supramolecular cages instead of the 2D layers shown in Fig. 2. Gratifyingly,

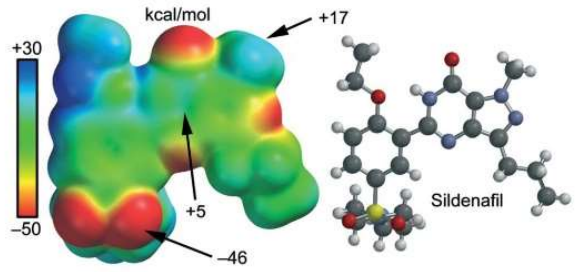


Fig. 5 Molecular electrostatic potential surface (isovalue 0.002 a.u.) map of sildenafil. The MEP values at selected points of the surface are given in kcal mol^{-1}.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2018

we succeeded in the co-crystallization of sildenafil with dioxane (see Fig. 6), and it can be observed that one lone pair of the O atom of dioxane is pointing to the π-system of the pyrimidine ring, in good agreement with the MEP analysis. Moreover, the other lone pair establishes a C–H···O interaction with one aromatic H-atom. Due to the chair conformation of the guest, the H-bonds that govern the formation of the self-assembled receptor are longer in **4** compared to those in **2** or **3** where the guest is a planar aromatic ring. Therefore, the cage is flexible enough to accommodate the guest inside the cavity.

Finally, we have also performed an NCI plot index analysis to characterize the non-covalent interactions between the self-assembled cage and either toluene (as example of an aromatic guest) or dioxane. The NCI plot is a convenient visualization index because it easily enables the visualization and identification of non-covalent interactions efficiently.[13] It is based on the peaks that appear in the reduced density gradient (RDG) at low densities (see ref. 14 for a more comprehensive treatment). When a supramolecular complex is formed, there is a crucial change in the RDG at the critical points in between molecules due to the annihilation of the density gradient at these points. Therefore, the NCI analysis allows an assessment of host–guest complementarity and the extent to which weak interactions stabilize a complex. The information provided is essentially qualitative, that is, which molecular regions interact. The color scheme is a red-yellow-green-blue scale with red for ρ^{+}_{cut} (repulsive) and blue for ρ^{-}_{cut} (attractive). The yellow and green surfaces correspond to weak repulsive and weak attractive interactions, respectively. The representations of the NCI plots computed for solvates **2** and **4** are shown in Fig. 7. In both solvates, a very small isosurface can be detected between the $-NCH_3$ group and the O atom of the sulphoxide group, thus characterizing the H-bond that is responsible for the formation of the cage. In solvate **2**, extended green regions are present between the aromatic ring of toluene and both pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine moieties, thus characterizing the π-stacking interactions. In solvate **4**, the H-bond and lp–π interactions involving the O atoms of dioxane are clearly represented by small isosurfaces. In addition, a more extended isosurface is located between the H atoms of dioxane and the pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine moiety, thus revealing the existence of C–H···π interactions that further stabilize the assembly. Finally, in both complexes, additional green isosurfaces are located between the guest and the cage walls confirming the existence of weak interactions. These are more evident in solvate **2** compared to **4**, in agreement with the stronger binding of toluene. This is likely due to the chair conformation of dioxane that causes the formation of a larger cavity and consequently the vdW contacts of the guest are less important.

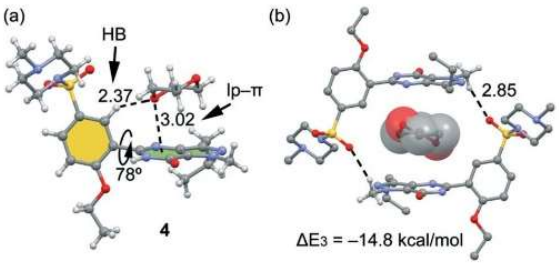


Fig. 6 X-ray structure of solvate **4** with the lp–π interaction indicated. (a) Self-assembled dimer observed in the solid state of solvate **4** (b) and the binding energy with dioxane. Distances are in Å.

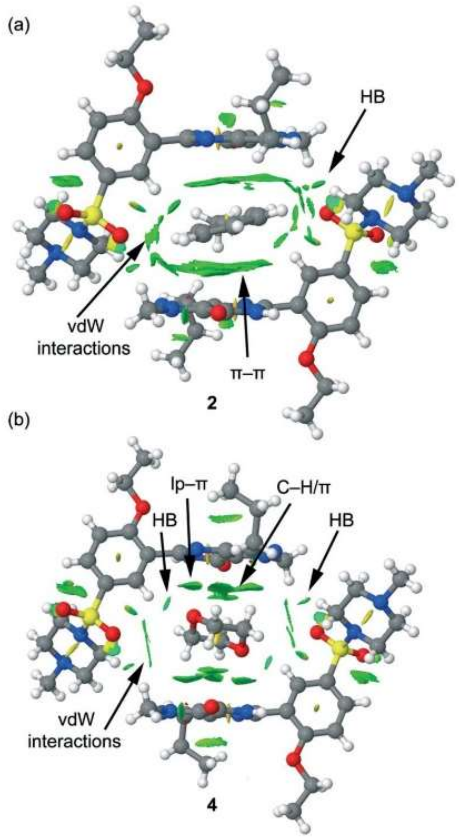


Fig. 7 NCI plots of the self-assembled cages of solvates **2** (a) and **4** (b). The gradient cut-off is $s = 0.35$ au and the color scale is $-0.04 < \rho < 0.04$ au.

In conclusion, we have reported the X-ray structure of several sildenafil solvates. The utilization of aromatic solvates causes a significant change in the conformation of the sildenafil moiety. The otherwise planar π-system composed of the phenyl and pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine rings changes to an almost perpendicular arrangement of the rings and the intramolecular H-bond is disrupted. All sildenafil solvates and salts reported so far present a co-planar disposition of both π-systems. Therefore, complexes **2–4** are the first examples of sildenafil X-ray structures exhibiting the formation of self-assembled dimers in the solid state, which are adequate for trapping aromatic solvent molecules and dioxane. Therefore, the results reported herein might be used to develop a new line of research devoted to the co-crystallization of sildenafil with biologically relevant planar molecules like aromatic

amino-acids or nucleobases which may have enhanced pharmaceutical properties.

Financial support from the MINECO of Spain (projects CTQ2014-57393-C2-1-P and CTQ2017-85821-R FEDER funds) is gratefully acknowledged.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Notes and references

‡ Details about the experimental methods, procedures for the preparation of crystals of **1–4** suitable for X-ray crystallography, thermal analysis characterization (DSC and TGA) and table of hydrogen bonding details for solvates **2–4** are given in the ESI.†

1 C. C. Robertson, J. S. Wright, E. J. Carrington, R. N. Perutz, C. A. Hunter and L. Brammer, *Chem. Sci.*, 2017, **8**, 5392.

2 *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*, ed. L. Shargel and A. B. C. Yu, Mc Graw-Hill, New York, 7th edn, 2016.

3 (*a*) A. Laties and E. Zrenner, *Prog. Retinal Eye Res.*, 2002, **21**, 485–506; (*b*) X.-D. Zhuang, M. Long, F. Li, X. Hu, X.-X. Liao and Z.-M. Du, *Int. J. Cardiol.*, 2014, **172**, 581.

4 H. S. Yathirajan, B. Nagaraj, P. Nagaraja and M. Bolte, *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, 2005, **61**, o489.

5 D. Stepanovs and A. Mishnev, *Z. Naturforsch., B: J. Chem. Sci.*, 2012, **67**, 491.

6 R. Banerjee, P. M. Bhatt and G. R. Desiraju, *Cryst. Growth Des.*, 2006, **6**, 1468.

7 P. Sanphui, S. Tothadi, S. Ganguly and G. R. Desiraju, *Mol. Pharmaceutics*, 2013, **10**, 4687.

8 (*a*) M. Žegarac, E. Lekšic, P. Šket, J. Plavec, M. D. Bogdanovic, D.-K. Bucar, M. Dumic and E. Meštrovic, *CrystEngComm*, 2014, **16**, 32; (*b*) D. Stepanovs, M. Jureb and A. Mishnev, *Mendeleev Commun.*, 2015, **25**, 49–50.

9 (*a*) S. R. Byrn, G. Zografi and X. Chen, *Solid-State Properties of Pharmaceutical Materials, Chapter 3: Solvates and Hydrates*, John Wiley & Sons, Inc., 1st edn, 2017; (*b*) B. Rodríguez-Spong, C. P. Price, A. Jayasankar, A. J. Matzger and N. Rodríguez-Hornedo, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2004, **56**, 241–274; (*c*) U. J. Griesser, The Importance of Solvates, in *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry*, ed. R. Hilfiker, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim, Germany, 2006.

10 (*a*) S. R. Byrn, R. R. Pfeiffer and J. G. Stowell, *Solid-State Chemistry of Drugs*, SSCI Inc., West Lafayette, IN, 2nd edn, 1999; (*b*) S. L. Morissette, O. Almarsson, M. L. Peterson, J. F. Remenar, M. J. Read, A. V. Lemmo, S. Ellis, M. J. Cima and C. R. Gardner, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2004, **56**, 275.

11 V. S. S. Kumar, F. C. Pigge and N. P. Rath, *Cryst. Growth Des.*, 2004, **4**, 651.

12 R. Barbas, M. Font-Bardia and R. Prohens, *Cryst. Growth Des.*, 2018, **18**, DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00683.

13 J. Contreras-García, E. R. Johnson, S. Keinan, R. Chaudret, J.-P. Piquemal, D. N. Beratan and W. Yang, *J. Chem. Theory Comput.*, 2011, 7, 625–632.

14 E. R. Johnson, S. Keinan, P. Mori-Sanchez, J. Contreras-Garcia, A. J. Cohen and W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 6498–6506.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2018

3.3 Article 3. *Combined Virtual/Experimental Multicomponent Solid Forms Screening of Sildenafil: New Salts, Cocrystals, and Hybrid Salt-Cocrystals*

Crystal Growth & Design, **2018**, 18, 7618-7627

Rafael Barbas,[1] Mercè Font-Bardia,[2] Anant Paradkar,[3]
Christopher A. Hunter[4] and Rafel Prohens[1,5]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[3] *Centre for Pharmaceutical Engineering Science, School of Pharmacy, University of Bradford, Bradford, U.K.*

[4] *Department of Chemistry, University of Cambridge, Cambridge, U.K.*

[5] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain.*

CRYSTAL GROWTH & DESIGN

Article

Cite This: Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

pubs.acs.org/crystal

Combined Virtual/Experimental Multicomponent Solid Forms Screening of Sildenafil: New Salts, Cocrystals, and Hybrid Salt−Cocrystals

Rafael Barbas,[†] Mercè Font-Bardia,[§] Anant Paradkar,[∥] Christopher A. Hunter,[‡] and Rafel Prohens*[,†,⊥]

[†]Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics and [§]Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain

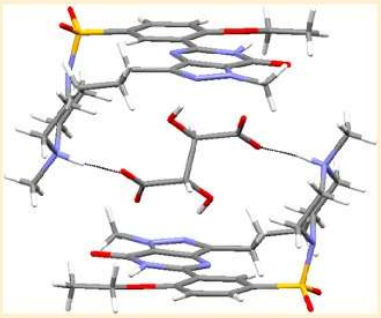
[∥]Centre for Pharmaceutical Engineering Science, School of Pharmacy, University of Bradford, Bradford, U.K.

[‡]Department of Chemistry, University of Cambridge, Cambridge, U.K.

[⊥]Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain

Supporting Information

ABSTRACT: New multicomponent solid forms of sildenafil have been discovered by means of a combined virtual/experimental cocrystal screening. Coformer selection of candidates was conducted based on an in silico screening method from a database of more than 2000 organic compounds, and the intensive experimental screen produced 23 new solid forms. Since the 12 coformers chosen have a combination of phenol and carboxylic acid groups, a variety of cocrystals, salts, and hybrid salt-cocrystals were discovered and characterized.



1. INTRODUCTION

Cocrystals of active pharmaceutical ingredients (APIs) have received massive attention over the past decade because they offer many opportunities to improve physicochemical properties of drugs.[1,2] Indeed, solubility is one of the most important properties for a drug compound since it has a direct impact on bioavailability, and the cocrystal approach is a versatile toolbox to tune this and another important property[3,4] such as stability[5] because of the high number of available potential coformers.

On February 2018, the Food and Drug Administration (FDA) released a final guidance titled "Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals Guidance for Industry",[6] providing applicants planning to submit new drug applications with information on the regulatory classification of pharmaceutical cocrystals, classifying them as a new form of the API, comparable in that respect to polymorphs, hydrates, salts, etc. The FDA asks the applicants to provide evidence to demonstrate that "both the API and coformers are present in the unit cell" and "the component API and coformer co-exist in the cocrystal which interact nonionically". The FDA guidance suggests that the applicant consider the difference of ΔpK_a between the API and the coformer or to provide evidence that proton transfer has not occurred in the lattice by means of spectroscopic tools or other orthogonal approaches. Thus, from a regulatory point of view, it is very important to assess the proton transfer in a multi-component drug solid form. In this sense, hybrid salt−cocrystals are located in the middle of the salt−cocrystal continuum and can constitute a particular case to be considered during the formulation of a new solid form.[7]

Sildenafil, the active principle of Viagra, is the first oral drug used for the medical treatment of erectile dysfunction in elderly patients, and it was initially used as an antihypertensive drug[8,9] but due to its poor aqueous solubility and low bioavailability it is generally formulated as sildenafil citrate.[10] This solid form still exhibits moderate bioavailability, and this is the reason why some efforts have been conducted to discover new salts and cocrystals with enhanced physicochemical properties. In this sense, a sildenafil/acetylsalicylic cocrystal exhibiting enhanced intrinsic dissolution rate compared to sildenafil citrate has been reported.[11] Moreover, pharmacokinetics of salts and cocrystals of sildenafil with dicarboxylic acids has been studied, and the glutarate salt was revealed to be a good candidate for alternative formulation of the citrate salt.[12] The crystal structures of sildenafil base, sildenafil citrate monohydrate, sildenafil saccharinate, and sildenafil acesulfamate have been published in the literature,[13,14] and some of us have described a new

Received: September 20, 2018
Revised: October 19, 2018
Published: October 30, 2018

ACS Publications © 2018 American Chemical Society

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

polymorph of sildenafil free base and new solvates.[15,16] With the aim to discover new multicomponent forms and extend the solid state knowledge of this important API, we have conducted a combined virtual/experimental salt/cocrystal screening by using a broad set of thermodynamic and kinetic experimental conditions. Twenty-three new solid forms of sildenafil, including salts, cocrystals, and hybrid salt−cocrystals, have been discovered and some of their crystal structures solved.

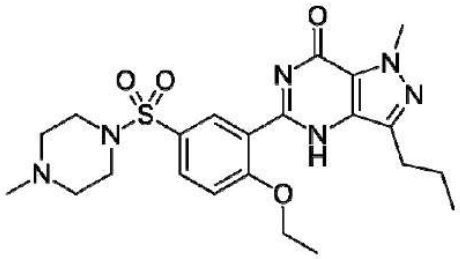


Figure 1. Molecular structure of sildenafil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials. Sildenafil (SIL) used in this study was of reagent grade and used as received from Polpharma (form I). The coformers quercetin (QUE), methyl gallate (MEG), tartaric acid (TAR), 3-hydroxybenzoic acid (3-HBA), 4-hydroxybenzoic acid (4-HBA), resorcinol (RES), 3,4-dihydroxybenzoic acid (3,4-DHBA), and caffeic acid (CAF) were purchased from Sigma-Aldrich.

2.2. Methods. *2.2.1. Virtual Cocrystal Screening.* For each compound, the molecule was drawn in an extended conformation and energy minimized using the molecular mechanics methods implemented in TorchLite.[17] Gaussian 09 was used to optimize the geometry and calculate the MEPS on the 0.002 Bohr $Å^{-3}$ electron density isosurface using density functional theory (DFT) and a B3LYP/6-31G* basis set.[18] The MEPS was converted into SSIPs using in-house software.[19]

2.2.2. Cocrystal Screening. Screening through liquid assisted grinding experiments (LAG) was conducted by grinding 20−35 mg of a 1:1 mixture of SIL and each coformer together with one drop of different solvents using a Retsch MM 2000 grinding mill. The samples were placed in 2 mL volume stainless steel jars, along with two stainless tungsten grinding balls of 3 mm diameter. Grinding was performed for 15−30 min, with a frequency of the mill of 30 Hz. Finally, the samples were collected immediately without prior drying for powder X-ray diffraction (PXRD) analysis. The formation of a new solid form was determined by comparing PXRD patterns of starting materials and products from cocrystal screening LAG experiments. Screening through reaction crystallization (RC) was conducted by preparing a saturated solution of the most soluble component (SIL or coformer) in different solvents in a sealed vial under stirring. A small quantity of the less soluble component was added until it did not dissolve anymore. The suspension was stirred at different times, and the resulting solids were filtered and analyzed by PXRD. Screening through solvent mediated transformations (SMT) were conducted by preparing suspensions of SIL and coformer in different molar ratios (40−1200 mg of the final mixture) in selected solvents. The sealed vials were stirred for different times, and the resulting solids were filtered and analyzed by PXRD.

2.2.3. Solution Crystallization. Solutions of SIL/coformer in a 1:1 molar ratio (10−20 mg of the final mixture) were prepared in different solvents and heated in a heating stainless steel block. The heater was switched off, and the solutions were allowed to slowly cool down to 25 °C inside the heating block. The samples which did not crystallize were tightly sealed and kept at 25 °C until precipitation was observed.

2.2.4. Synthesis of the Different Crystal Forms of Sildenafil. Details of synthesis and characterization of each form can be found in Supporting Information (see section 1 and Table S1). Stoichiometry has been assessed based on NMR and thermogravimetric analysis (TGA) measurements when the crystal structure is not available. In those cases where the crystal structure has not been solved, the definition of the form as a salt or a cocrystal has been done based on the probability of proton transfer determined with eq 3.

Twenty-three multicomponent forms of SIL (cocrystals, salts, and hybrid salt−cocrystal) have been obtained through a cocrystal screening with 8 out of the 12 coformers used. Five cocrystal forms of SIL have been obtained with three coformers: two forms with quercetin in a 1:1 stoichiometry (one as an isopropanol solvate, SIL-QUE I, and one as a tetrahydrofuran solvate, SIL-QUE II); two forms

Table 1. Crystal Data for the Different Crystal Forms of Sildenafil

structure	SIL-TAR IV	SIL-3,4-DHBA II	SIL-3,4-DHBA IV	SIL-3-HBA II	SIL-3-HBA IV
empirical formula	$C_{51}H_{74}N_{12}O_{15}S_2$	$C_{40}H_{48}N_8O_{12}S$	$C_{65}H_{82}N_{12}O_{22}S_2$	$C_{31}H_{43}N_6O_9S$	$C_{65}H_{82}N_{12}O_{19}S_2$
formula weight	1159.34	864.92	1447.54	675.77	1399.54
temperature (K)	293(2)	100(2)	100(2)	100(2)	100(2)
crystal system	triclinic	monoclinic	monoclinic	monoclinic	monoclinic
space group	$P\bar{1}$	$P21/n$	$P21/c$	$P21/n$	$P21/n$
a, b, c (Å)	6.3796(8)	11.6418(8)	17.6070(17)	17.7205(18)	17.5329(10)
	13.4449(18)	15.3849(13)	8.6938(8)	8.2574(7)	8.6545(4)
	17.620(2)	24.7913(19)	24.942(2)	22.991(2)	22.9653(13)
α, β, γ (deg)	108.607(5)	90	90	90	90
	98.363(6)	102.749(3)	117.101(5)	102.748(3)	105.591(2)
	92.814(6)	90	90	90	90
volume ($Å^3$)	1409.7(3)	4330.8(6)	3398.7(5)	3281.2(5)	3356.5(3)
Z, density (calc.) (Mg/m^3)	1, 1.366	4, 1.327	2, 1.414	4, 1.368	2, 1.385
crystal size (mm^3)	0.344 × 0.144 × 0.044	0.358 × 0.196 × 0.074	0.324 × 0.152 × 0.112	0.129 × 0.119 × 0.109	0.336 × 0.197 × 0.086
reflections collected/unique	53107/6455	66326/8875	69444/7838	18923/4567	33777/5726
	[R(int) = 0.1123]	[R(int) = 0.0949]	[R(int) = 0.0722]	[R(int) = 0.082]	[R(int) = 0.0482]
data/restraints/parameters	6455/8/396	8875/0/570	7838/2/460	4567/6/454	5726/0/502
goodness-of-fit on F^2	1.105	1.070	1.024	1.017	1.038
final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	R_1 = 0.0678	R_1 = 0.0537	R_1 = 0.0476	R_1 = 0.0504	R_1 = 0.0382
	wR_2 = 0.1740	wR_2 = 0.1151	wR_2 = 0.1084	wR_2 = 0.1168	wR_2 = 0.0886
CCDC	1858573	1858576	1858577	1858574	1858575

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

with resorcinol in two different stoichiometries (one in a 1:1 molar ratio, SIL-RES I, and one in a 1:2 molar ratio, SIL-RES II); one form with methyl gallate in a 1:1 stoichiometry, SIL-MEG. Fourteen salts of SIL have been obtained with five coformers: one form with 3,4-dihydroxybenzoic acid in a 1:1 stoichiometry as an isopropanol solvate, SIL-3,4-DHBA I; four forms with tartaric acid in two different stoichiometries: two in a 1:1 molar ratio (an anhydrous form, SIL-TAR I, and an isopropanol solvate, SIL-TAR III); two in a 2:1 molar ratio (an anhydrous form, SIL-TAR II, and an isopropanol solvate, SIL-TAR IV); two forms with caffeic acid in a 2:3 stoichiometry (one as an anhydrous form, SIL-CAF I, and one as a monohydrate, SIL-CAF II); three forms with 3-hydroxybenzoic acid in a 1:1 stoichiometry (one as an acetonitrile solvate, SIL-3-HBA I, one as a tetrahydrofuran solvate sesquihydrate, SIL-3-HBA II, and one as an anhydrous form, SIL-3-HBA III); four forms with 4-hydroxybenzoic acid in a 1:1 stoichiometry (two as anhydrous forms, SIL-4-HBA I and SIL-4-HBA III, one as a hemiisopropanol solvate, SIL-4-HBA II, and one as a tetrahydrofuran solvate, SIL-4-HBA IV). Four hybrid salt-cocrystal forms of SIL have been obtained with two coformers: three forms with 3,4-dihydroxybenzoic acid in two different stoichiometries (two of them in a 1:2 molar ratio as acetonitrile solvates, SIL-3,4-DHBA II and SIL-3,4-DHBA III, and one in a 2:3 molar ratio as a dehydrate, SIL-3,4-DHBA IV) and finally one form with 3-hydroxybenzoic acid in a 2:3 stoichiometry as a dehydrate, SIL-3-HBA IV.

2.2.5. X-ray Crystallographic Analysis. Single crystal X-ray diffraction intensity data of the different crystal forms of sildenafil were collected using a D8 Venture system equipped with a multilayer monochromator and a Mo microfocus (λ = 0.71073 Å). Frames were integrated with the Bruker SAINT software package using a SAINT algorithm. Data were corrected for absorption effects using the multiscan method (SADABS).[20] The structures were solved and refined using the Bruker SHELXTL Software Package, a computer program for automatic solution of crystal structures and refined by full-matrix least-squares method with ShelXle Version 4.8.0, a Qt graphical user interface for SHELXL computer program.[21]

Powder X-ray diffraction patterns were obtained on a PANalytical X'Pert PRO MPD diffractometer in transmission configuration using Cu Kα1 + 2 radiation (λ = 1.5406 Å) with a focusing elliptic mirror and a PIXcel detector working at a maximum detector's active length of 3.347°. Configuration of convergent beam with a focalizing mirror and a transmission geometry with flat sample sandwiched between low absorbing films measuring from 2 to 40° in 2θ, with a step size of 0.026° or from 2 to 70° in 2θ, with a step size of 0.013° with measuring times of 30 min to 4 h. The powder diffractograms were indexed, and the lattice parameters were refined by means of LeBail fits by means of Dicvol04,[22] and the space groups were determined from the systematic absences. A summary of crystal data and relevant refinement parameters are given in Tables 1 and 2.

2.2.6. Differential Scanning Calorimetry (DSC). Differential scanning calorimetry analysis were carried out by means of a Mettler-Toledo DSC-822e calorimeter. Experimental conditions: aluminum crucibles of 40 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with a 50 mL/min flow rate, and heating rate of 10 °C/min. The calorimeter was calibrated with indium of 99.99% purity (m.p.: 156.4 °C, ΔH: 28.55 J/g).

2.2.7. Thermogravimetric Analysis (TGA). Thermogravimetric analyses were performed on a Mettler-Toledo TGA-851e thermobalance. Experimental conditions: alumina crucibles of 70 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, and a heating rate of 10 °C/min.

2.2.8. Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) spectra was recorded on a Varian Mercury 400 (400 MHz). Chemical shifts for proton are reported in parts per million (ppm) downfield from tetramethylsilane and are referenced to residual proton in the NMR solvent (DMSO-d_6: δ 2.50). Experimental conditions: delay: 1; pulse: 45°; scans: 32 or 64.

2.2.9. Dissolution Study. The dissolution measurements were carried out only with the solid forms that could be obtained pure in amounts sufficient to perform a dissolution study: pure sildenafil, salts of sildenafil with citric acid, tartaric acid, 3-HBA and 3,4-DHBA, a

Table 2. Comparative Cell Parameters Data[a] from SXRD and PXRD

crystal form		a (Å)	b (Å)	c (Å)	α (deg)	β (deg)	γ (deg)	V (Å^3)	Z	R (%)	space group
SIL-QUE I	PXRD	42.39(2)	14.854(4)	15.059(6)	82.41(3)	138.08(2)	120.01(2)	4992(3)	5	11.1	$P\bar{1}$
SIL-QUE II	PXRD	22.528(8)	13.536(4)	8.007(2)	57.95(2)	95.99(3)	95.96(2)	2054(1)	2	6.69	$P\bar{1}$
SIL-3,4-DHBA I	PXRD	12.765(2)	13.463(1)	12.106(2)	112.03(1)	84.0929(9)	114.28(1)	1754.7(3)	2	8.41	$P\bar{1}$
SIL-3,4-DHBA II	SXRD	11.6418(8)	15.3849(13)	24.7913(19)	90	102.749(3)	90	4330.8(6)	4	5.37	$P21/n$
SIL-3,4-DHBA III	PXRD	24.947(6)	15.718(3)	11.642(3)	90	103.96(2)	90	4430(2)	4	7.76	$P21/n$
SIL-3,4-DHBA IV	SXRD	17.6070(17)	8.6938(8)	24.942(2)	90	117.101(5)	90	3398.7(5)	2	4.76	$P21/c$
SIL-RES I	PXRD	11.266(2)	14.835(2)	14.178(2)	38.099(7)	94.79(1)	96.09(9)	1453.9(3)	2	12.0	$P\bar{1}$
SIL-RES II	PXRD	14.2705(4)	26.083(2)	9.9925(5)	90	108.398(3)	90	3530.0(3)	4	6.20	$P21/a$
SIL-TAR I	PXRD	18.07(1)	13.609(6)	7.590(4)	85.98(3)	92.33(3)	110.09(4)	1749(1)	2	7.31	$P\bar{1}$
SIL-TAR II	PXRD	33.57(9)	15.070(3)	11.547(3)	90	90	90	5445(2)	4	8.11	P21 21 21
SIL-TAR III	PXRD	18.313(4)	15.070(3)	6.3764(9)	63.85(1)	101.56(1)	112.86(2)	1454.5(5)	2	7.64	$P\bar{1}$
SIL-TAR IV	SXRD	6.3796(8)	13.4449(18)	17.620(2)	108.607(5)	98.363(6)	92.814(6)	1409.7(3)	1	6.78	$P\bar{1}$
SIL-CAF I	PXRD	25.845(7)	8.336(1)	20.32(6)	90	121.19(1)	90	3744(2)	2	5.76	$P21/m$
SIL-MEG	PXRD	12.9869(8)	13.4289(8)	13.4551(8)	53.033(3)	118.580(4)	111.246(4)	1637.1(1)	2	5.04	$P\bar{1}$
SIL-3-HBA II	SXRD	17.7205(18)	8.2574(7)	22.991(2)	90	102.748(3)	90	3281.2(5)	4	5.04	$P21/n$
SIL-3-HBA IV	SXRD	17.5329(10)	8.6545(4)	22.9653(13)	90	105.591(2)	90	3356.5(3)	2	3.82	$P21/n$

[a] R-factor for SXRD and R_{wp} for PXRD.

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

cocrystals with RES, QUE, and two hybrid salt-cocrystals of sildenafil with 3,4-DHBA. The dissolution was determined in 0.1 N HCl (pH 1.2), phosphate buffer pH 6.5, and a biorelevant dissolution medium fasted state simulated intestinal fluid (FaSSIF) at 25 °C. For dissolution studies 40 mg of crystalline compounds were added to the dissolution medium stirred at 100 rpm over 24 h, and samples were withdrawn at 1 and 24 h. The amount of SIL dissolved in 1 h (D_{1h}) and 24 h (D_{24h}) was determined using the HPLC technique. The details about dissolution medium and HPLC method are provided in Supporting Informatiom.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Virtual Cocrystal Screen. We selected the coformers for experimental screening based on the virtual cocrystal screening methodology developed by some of us to predict the probability of cocrystal formation.[23] This computational tool has been validated using experimental data extracted from the literature.

The difference between the calculated energy of the cocrystal and the pure components was used to rank potential cofomers.[24] This approach uses surface site interaction points (SSIPs) calculated from the ab initio molecular electrostatic potential surface (MEPS) of the isolated molecule in the gas phase.[19,25] The interaction of a molecule with its environment is described by a discrete set of SSIPs, each represented by an interaction parameter, ε_i, which is positive for a H-bond donor site (or positive region on the MEPS) and negative for a H-bond acceptor site (or negative region on the MEPS). The energy of interaction between two SSIPs, i and j, is given by the product $\varepsilon_i\varepsilon_j$. We assume that pairwise interactions between SSIPs are optimized in a solid, and this provides a method for evaluating the interaction site pairing energy of a solid without knowledge of the crystal structure.[26] The most positive SSIP is paired with the most negative SSIP, the next most positive SSIP with the next most negative, and so on, giving a hierarchical list of interactions.[27,28] This interaction site pairing strategy provides a straightforward method for estimating the energy of a solid, E (eq 1). The same approach can be used to estimate the energy of a cocrystal, and the difference between the interaction site pairing energies of the cocrystal and the pure components, ΔE, can be used to estimate the probability of cocrystal formation (eq 2).

$$E = \sum \varepsilon_i\varepsilon_j \quad (1)$$

$$\Delta E = -(E_{cc} - E_1 - E_2) \quad (2)$$

where E_1, E_2, and E_{cc} are the interaction site pairing energies of the pure solids, 1 and 2, and a 1:1 cocrystal respectively. Note that this definition means that ΔE is always positive, and a large value indicates a high probability of cocrystal formation.

Some of us have previously applied the method to successfully predict the formation of new cocrystals,[29,30] and in this work we have followed this theoretical approach to guide the selection of a limited number of coformers to test experimentally. Thus, the difference between the interaction site pairing energies of the 1:1 cocrystal and the pure components was calculated for each sildenafil/coformer combination using a coformer database which contains more than 2000 organic compounds (including 860 products from the GRAS list). The coformers were ranked in order of decreasing ΔE, and only 12 coformers were chosen from the top 100 compounds according to toxicity criteria and probability of success in a cocrystallization experiment (Table 3). This theoretical approach defines an energy threshold of 11 kJ/mol where the probability of cocrystal formation is higher than 50%. Thus, only coformers with ΔE > 11 kJ/mol were chosen for experimental screening.

Table 3. Coformers Chosen in This Study Based on the Difference between the Interaction Site Pairing Energies of Sildenafil and the Pure Components, ΔE

coformer	ΔE/kJ mol^{-1}
quercetin	28.1
resveratrol	24.0
phloroglucinol	23.8
3,4-dihydroxybenzoic acid	21.7
resorcinol	19.3
tartaric acid	18.2
caffeic acid	17.8
myo-inositol	15.7
tert-butylhydroquinone	13.8
methyl gallate	13.5
3-hydroxybenzoic acid	13.1
4-hydroxybenzoic acid	12.9

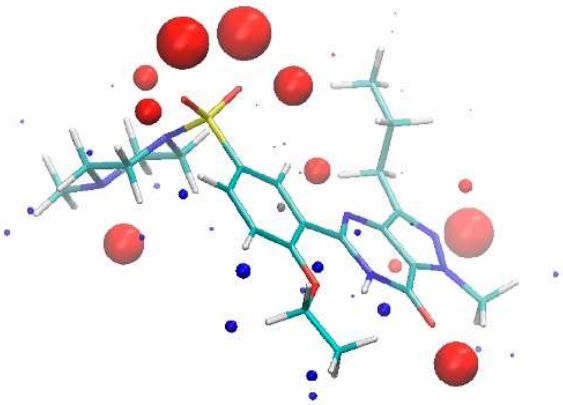


Figure 2. SSIPs calculated for sildenafil. Blue spheres correspond to H-bond donors and red spheres to H-bond acceptors.

Since sildenafil has a strong basic group, the formation of salts with strong carboxylic acids is expected. In fact, the formation of a salt or a cocrystal can be assessed based on the "rule of thumb"[31] which states that salts are formed when ΔpK_a [pK_a(base) − pK_a(acid)] ≥ 3, and a cocrystal is expected when this value is ≤0, the combinations with a value 0 ≤ [pK_a(base) − pK_a(acid)] ≤ 3 being much less reliable and falling around a "salt-cocrystal continuum" region.[32] This uncertainty motivated the analysis and correlation by Cruz-Cabeza[33] of a big set of experimental cocrystal/salt data in order to develop a more reliable equation to predict the salt/cocrystal outcome. According to this statistical analysis, eq 3 allows prediction of the probability of proton transfer around the region of ΔpK_a values between −1 and 4.

$$P(\%) = 17\Delta pK_a + 28 \quad (3)$$

Sildenafil has a basic functional group (piperazine) with a pK_a value of 6.78,[34] and we have applied this statistical approach to the coformers with acidic groups selected from the virtual cocrystal screening to assess the probability of salt formation (Table 4).

Coformers with acidic groups such as (3-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid,

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

Table 4. Cocrystal Screening Coformers pK_a's and Estimated Probability of Proton Transfer

coformer	reported pK_a	ΔpK_a	P (%)
quercetin	8.45[35]	−1.67	0
resveratrol	8.49[36]	−1.71	0
phloroglucinol	7.97[37]	−1.19	8
3,4-dihydroxybenzoic acid	4.40[37]	2.38	68
resorcinol	9.44[37]	−2.66	0
tartaric acid	3.03[37]	3.75	92
caffeic acid	4.47[36]	2.31	67
myo-inositol	12.29[36]	−5.51	0
t-butylhydroquinone	9.94[36]	−3.16	0
methyl gallate	8.11[35]	−1.33	5
3-hydroxybenzoic acid	4.08[38]	2.7	74
4-hydroxybenzoic acid	4.57[38]	2.21	66

and tartaric acid) were expected to form salts. However, salt stoichiometry is an important outcome not always easy to predict because hybrid salt−cocrystal forms are also possible. In this sense, there are interesting examples in the literature with unexpected stoichiometries due to the presence of nonionized molecules in the crystal structure such as the p-coumaric acid/quinine[39] or the *trans*-*N*,*N*′-dibenzyldiaminocyclohexane/2,3-dichlorophenylacetic acid[40] hybrid salt−cocrystals. Moreover, Aakeröy et al.[41] suggested in a structural analysis of more than 80 cocrystals and salts formed between carboxylic acids and N-heterocycles that the formation of unexpected hybrid salt−cocrystals could be because carboxylate moieties are not readily satisfied by a single hydrogen-bond donor making necessary the presence of neutral carboxylic acids in the crystal structure. We have examined the Cambridge Structural Database (version 5.39, 2018) in order to assess the formation of hybrid salt−cocrystal forms in multicomponent crystals containing a piperazine ring (the basic group of sildenafil) and a carboxylic acid (Figure 3).

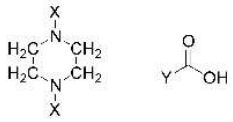


Figure 3. Fragments searched in multicomponent crystals in the CSD.

A total of 247 crystal structures containing atomic coordinates were found and classified as salt, cocrystal, or hybrid salt−cocrystal according to the C−O bond lengths of the carboxylate moiety. Although 184 structures showed total proton transfer between donor and acceptor, 63 of them revealed that cocrystals or mixed salt-cocrystals were formed. This encouraged us to test the carboxylic acids previously chosen in the virtual cocrystal prediction. Table 5 summarizes the results of this structural analysis.

Table 5. Classification of Multicomponent Crystals with a Piperazine and a Carboxylic Group in the CSD

class	no. of structures	%
salt	184	75
cocrystal	38	15
hybrid	25	10

3.2. Salt/Cocrystal Screening. With the aim to discover new salts or cocrystals of sildenafil ,an extensive multicomponent solid forms screening was conducted by using a broad set of thermodynamic and kinetic experimental conditions from a variety of 54 solvents,[42] which produced 194 individual crystalline solids (see Supporting Information for experimental and characterization details).

3.3. Crystal Structures Analysis. The crystal structures of 5 out of the new 23 forms of sildenafil have been solved by single crystal X-ray diffraction, and the following analysis shows that in all cases salts or hybrid salt-cocrystals have been formed with tartaric acid, 3-hydroxybenzoic acid, and 3,4-dihydroxibenzoic acid.

3.3.1. Tartaric Acid Salt Isopropanol Hemisolvate (SIL-TAR IV). Tartaric acid salt isopropanol hemisolvate crystallizes with one molecule of sildenafil cation, half molecule of tartrate dianion, and half disordered molecule of isopropanol in the asymmetric unit. Transfer of both protons of tartaric acid has been deduced since tartrate C−O distances are 1.183(9) and 1.232(8) Å. The dianion, which shows disorder between two conformations (in a 1:1 ratio), is encapsulated between two molecules of sildenafil establishing strong charge-assisted hydrogen bonds. Sildenafil/tartrate cages are packed with a combination of electrostatic interactions between sulphonamide moieties in a self-association fashion and weak hydrogen bonds between *N*-methylpyrazole rings (Figures 4 and 5). Molecular cavities are present and occupied by disordered molecules of isopropanol.

3.3.2. Hybrid 3-Hydroxybenzoic Acid Salt−Cocrystal Monohydrate (SIL-3-HBA IV). The hybrid salt−cocrystal formed by 3-hydroxybenzoic acid and sildenafil crystallizes with one molecule of sildenafil cation, one molecule of the carboxylate, half molecule of the carboxylic acid, and one molecule of water in the asymmetric unit. Chains of self-assembled sildenafil cations are formed through strong hydrogen bonds between the piperazinium ring and the carbonylic oxygen. As expected, strong charge-assisted hydrogen bonds are formed between the carboxylate anion and the piperazinium cation, but one molecule of the nonionized carboxylic acid interacts with the carboxylate anion via the phenol and carboxylic hydrogen in an alternate manner (Figure 9). Weak antiparallel dipole−dipole interactions between stacked pyrimidinone rings are established conferring extra stabilization to the crystal (Figure 8).

In addition, one molecule of water is also present acting as a bridge between carboxylates (Figure 6). Nonionized 3-hydroxybenzoic acid molecules are located in channels establishing strong hydrogen bonds with other 3-hydroxybenzoate molecules (Figure 7).

3.3.3. 3-Hydroxybenzoic Acid Salt THF Hemisolvate Sesquihydrate (SIL-3-HBA II). The salt formed by 3-hydroxybenzoic acid and sildenafil crystallizes with one molecule of sildenafil cation, one molecule of the carboxylate, half disordered molecule of THF, and 1.5 molecules of water in the asymmetric unit. In spite of the different degree of proton transfer, this solid form is isostructural to the hybrid 3-hydroxybenzoic acid salt-cocrystal, and the same interactions between sildenafil and 3-hydroxybenzoate molecules are established. Moreover, identical channels are formed but filled by disordered tetrahydrofuran and water molecules instead of molecules of 3-hydroxybenzoic acid. Only small differences between both structures are present like, for instance, centroid−centroid distances measured between

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

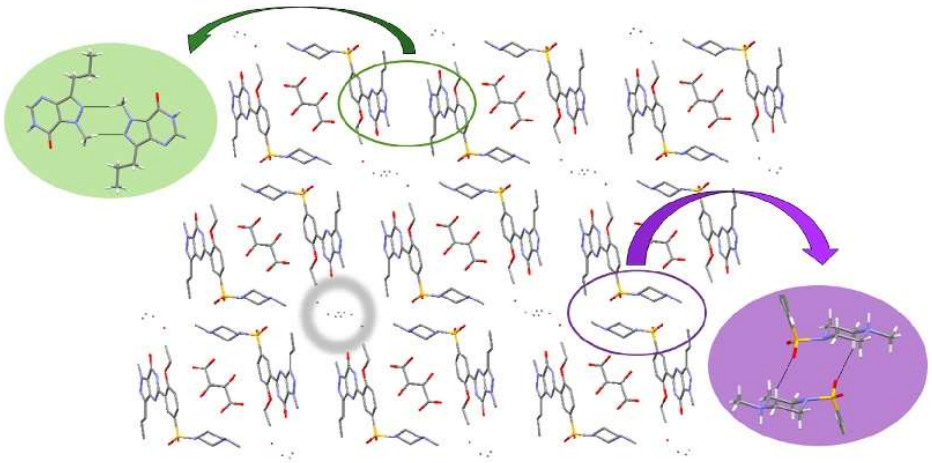


Figure 4. Crystal structure of tartaric acid salt of sildenafil. The most relevant interactions are highlighted. Channels filled by solvent molecules are highlighted with gray circles.

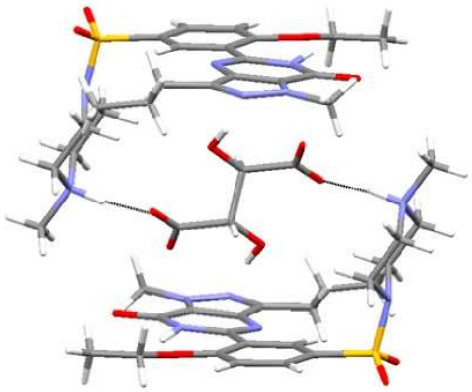


Figure 5. Sildenafil/tartrate cage in the crystal structure of tartaric acid salt of sildenafil.

pyrimidinone rings and torsion angles of propyl groups (Figure 8).

3.3.4. Hybrid 3,4-Dihydroxybenzoic Acid Salt−Cocrystal Monohydrate (SIL-3,4-DHBA IV). The hybrid salt-cocrystal formed by 3,4-dihydroxybenzoic acid and sildenafil crystallizes with one molecule of sildenafil cations, one molecule of the carboxylate, half molecule of the carboxylic acid, and one molecule of water in the asymmetric unit. This solid form is isostructural to the hybrid 3-hydroxybenzoic acid salt−cocrystal. The presence of an extra phenol group in the 3,4-dihydroxybenzoic acid only reinforces the same packing without disrupting any of the main observed interactions in the hybrid 3-hydroxybenzoic acid salt−cocrystal. Figure 9 shows chains of carboxylate molecules linked by water molecules in both structures.

3.3.5. Hybrid 3,4-Dihydroxybenzoic Acid Salt−Cocrystal Acetonitrile Disolvate (SIL-3,4-DHBA II). The hybrid 3,4-dihydroxybenzoic acid salt−cocrystal acetonitrile disolvate crystallizes with one molecule of the sildenafil cation, one molecule of the carboxylate, one molecule of the carboxylic acid, and two molecules of acetonitrile in the asymmetric unit. In a similar way that the tartaric acid salt, instead of catemeric chains

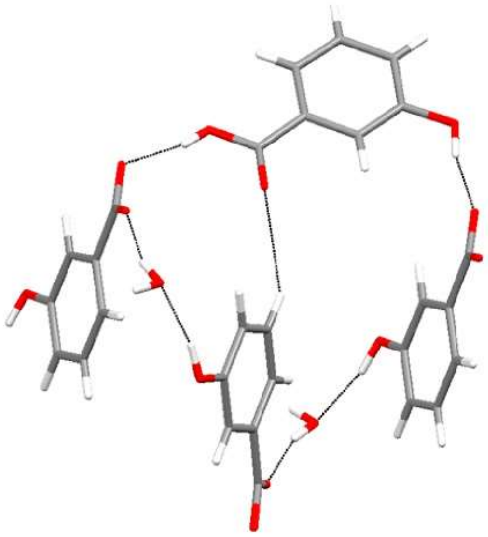


Figure 6. Chains of carboxylate/carboxylic acid molecules linked by molecules of water in the hybrid 3-hydroxybenzoic salt−cocrystal monohydrate.

of sildenafil cations, self-assembled dimers are formed through charge-assisted hydrogen bonds (Figure 10).

However, the antiparallel dipole−dipole interactions between stacked pyrimidinone rings are not observed in this form. This is the only structure of this family of hybrid salts−cocrystals where water is not present, and this produces a different architecture of the coformer self-assembling, which consists of layers of alternate carboxylic/carboxylate interactions (Figure 11).

3.4. Dissolution Study. The dissolution studies were carried out at pH 1.2, pH 6.5, and FaSSIF (pH 6.5), which represent the average pH values of the fast state stomach and intestine, respectively. SIL has pH dependent solubility which decreases with an increase in pH. One of the major challenges in the dissolution study of multicomponent entities is continuous change in the solution composition due to precipitation of either of the component over the dissolution testing period. The

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

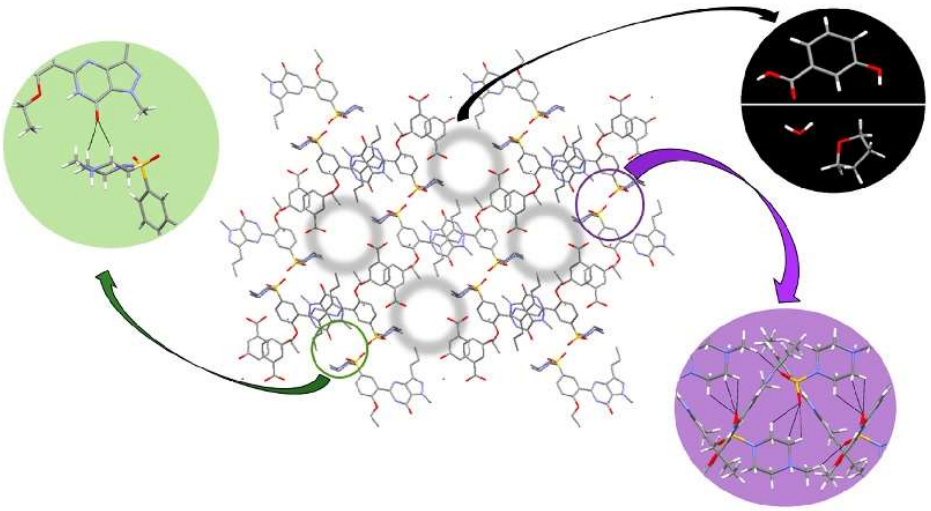


Figure 7. Representation of the crystal structures of 3-hydroxybenzoic acid salt and hybrid salt−cocrystal of sildenafil. The most relevant interactions have been highlighted, and hydrogens have been partially omitted for clarity. Channels filled by THF and water molecules in the salt or 3-hydroxybenzoic molecules in the hybrid salt−cocrystal are highlighted with gray circles.

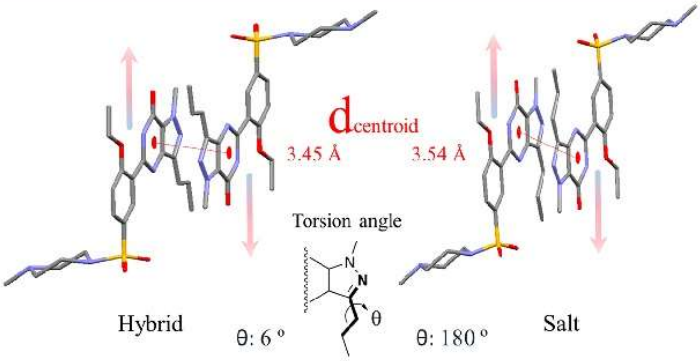


Figure 8. Antiparallel dipole−dipole interactions established between stacked pyrimidinone rings in the crystal structures of 3-hydroxybenzoic acid salt (right) and hybrid salt-cocrystal (left). Differences in centroid−centroid distances measured between pyrimidinone rings and torsion angles of propyl groups are shown for each structure.

solubility data generated may be erroneous due to limitations of the analytical method; for example, estimations carried out by UV spectrophotometry are subject to the overlap in the absorption spectra of the two components. We have used the HPLC method to quantify the amount of SIL dissolved; hence we see some difference in reported dissolutions compared to the previous SIL salt dissolution data reported.[43] Figures 12, 13, and 14 (and Figures S75−S77 of the Supporting Information) show the dissolution data.

At pH 1.2 the amount dissolved from SIL salts was significantly higher than the cocrystals and the hybrid salt−cocrystal forms. The hybrid salt−cocrystals showed poor dissolution performance compared to cocrystals. The D_{1h} and D_{24h} values for SIL-TAR I were higher than for SIL-CIT, a commercially used salt of SIL. At pH 1.2 in the salt category SIL-TAR > SIL-3-HBA I > SIL-CIT > SIL-3,4-DHBA I. On the other hand D_{1h} for SIL-RES II > SIL-QUE I and SIL-QUE II. As expected, the amount dissolved at pH 6.5 was at least 10 times lower than the amount dissolved at pH 1.2. But in both conditions, the amount of SIL dissolved was significantly higher for salts than for cocrystals and hybrid salt−cocrystals. Most of the cocrystals and hybrid salt−cocrystals did not provide any release of SIL at pH 6.5 or even in FaSSIF, which contains an additive like lecithin included in the dissolution media. Thus, although an exhaustive solubility study of the new forms was not the main objective of this research, our data suggest that SIL-TAR could be a potential alternative (in terms of bioavailability) to the commercial citrate salt of sildenafil.

4. CONCLUSIONS

In summary, we have revisited the multicomponent solid form landscape of sildenafil by conducting a combined virtual and experimental screening. Twenty-three new solid forms have been discovered and characterized, and dissolution data have been measured for some of the solid forms suggesting the new tartrate salt as a potential alternative to the marketed citrate salt. The analysis of the five crystal structures solved by SXRD showed a variety of salts and hybrid salt−cocrystals with different hydrogen bond architectures and presence of solvent channels. This study extends the knowledge about the solid state

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

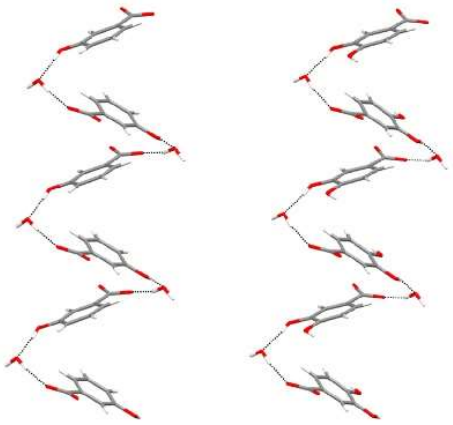


Figure 9. Chains of carboxylate molecules linked by molecules of water in the hybrid 3-hydroxybenzoic acid salt−cocrystal (left) and in the hybrid 3,4-dihydroxybenzoic acid salt−cocrystal (right).

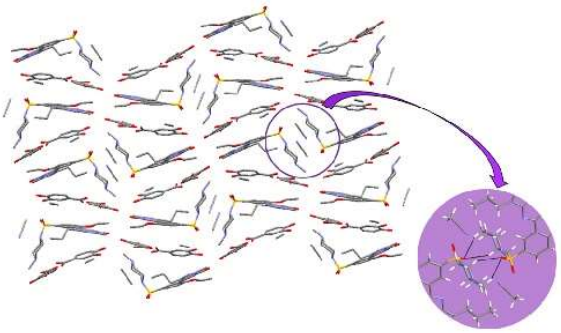


Figure 10. Crystal structure of 3,4-dihydroxybenzoic acid hybrid salt−cocrystal. Self-assembled dimers formed through charge-assisted hydrogen bonds are highlighted. Hydrogens have been partially omitted for clarity.

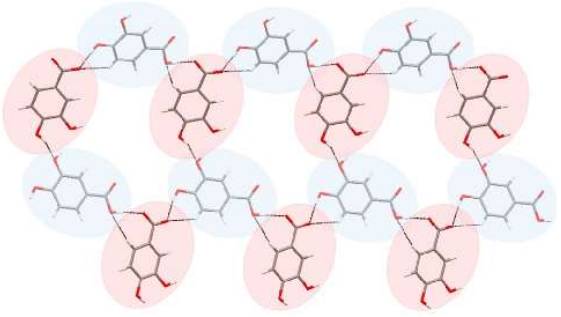


Figure 11. Layers of alternate carboxylic (blue)/carboxylate (red) interactions.

of this important drug compound, contributes with new cases to the body of data of unexpected stoichiometric hybrid salt−cocrystals, and it is a new example of successful application of combined virtual/experimental methodologies for the discovery of new solid forms.

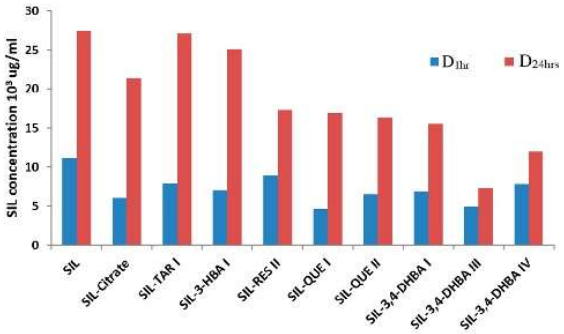


Figure 12. Comparative solubility of SIL salts, cocrystals, and hybrid salt−cocrystals in 0. 1 N HCl (pH 1.2).

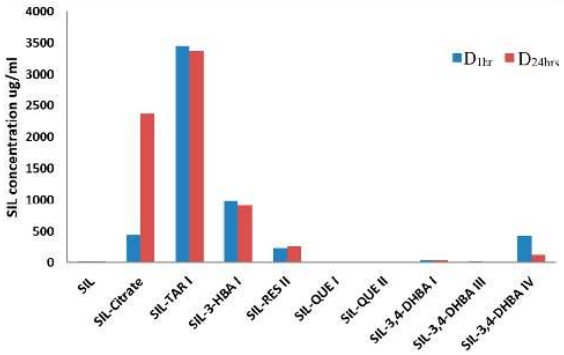


Figure 13. Comparative solubility of SIL salts, cocrystals, and hybrid salt−cocrystals in phosphate buffer pH 6.5.

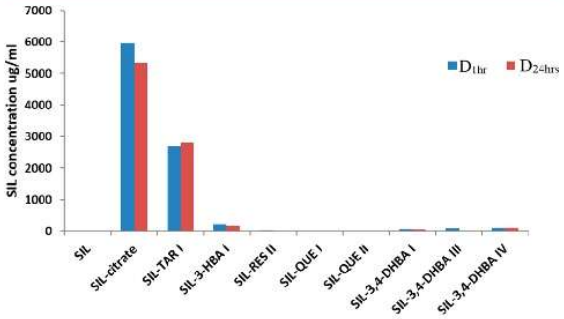


Figure 14. Comparative solubility of SIL salts, cocrystals, and hybrid salt−cocrystals in FaSSIF.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413.

Synthesis of different crystal forms. Crystal data and structure refinement. Cocrystal screening experiments. Characterization of the solids: DSC and TGA thermograms, PXRD diffractograms, ^{1}H NMR spectra of new crystal forms (PDF)

Accession Codes

CCDC 1858573−1858577 contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

charge via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif, or by emailing data_request@ccdc.cam.ac.uk, or by contacting The Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: rafel@ccit.ub.edu.

ORCID

Rafael Barbas: 0000-0002-1603-3689
Anant Paradkar: 0000-0003-1704-9858
Christopher A. Hunter: 0000-0002-5182-1859
Rafel Prohens: 0000-0003-0294-1720

Notes

The authors declare no competing financial interest.

REFERENCES

(1) Blagden, N.; de Matas, M.; Gavan, P. T.; York, P. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2007**, *59*, 617−630.

(2) Almarsson, O.; Zaworotko, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chem. Commun.* **2004**, 1889−1896.

(3) Bolla, G.; Sanphui, P.; Nangia, A. Solubility Advantage of Tenoxicam Phenolic Cocrystals Compared to Salts. *Cryst. Growth Des.* **2013**, *13*, 1988−2003.

(4) Good, D. J.; Rodríguez-Hornedo, N. Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 2252−2264.

(5) Liu, X.; Lu, M.; Guo, Z.; Huang, L.; Feng, X.; Wu, C. Improving the Chemical Stability of Amorphous Solid Dispersion with Cocrystal Technique by Hot Melt Extrusion. *Pharm. Res.* **2012**, *29*, 806−817.

(6) Food and Drug Administration. *Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals Guidance for Industry*, 2018.

(7) Thipparaboina, R.; Kumar, D.; Mittapalli, S.; Balasubramanian, S.; Nangia, A.; Shastri, N. R. Ionic, Neutral, and Hybrid Acid-Base Crystalline Adducts of Lamotrigine with Improved Pharmaceutical Performance. *Cryst. Growth Des.* **2015**, *15*, 5816−5826.

(8) Barnett, C. F.; Machado, R. F. Sildenafil in the treatment of pulmonary hypertension. *Vasc Health Risk Manag.* **2006**, *2*, 411−422.

(9) Galiè, N.; Hoeper, M. M.; Humbert, M.; Torbicki, A.; Vachiery, J. L.; Barbera, J. A.; Beghetti, M.; Corris, P.; Gaine, S.; Gibbs, J. S.; Gomez-Sanchez, M. A.; Jondeau, G.; Klepetko, W.; Opitz, C.; Peacock, A.; Rubin, L.; Zellweger, M.; Simonneau, G. ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur. Heart J.* **2009**, *30*, 2493−2537.

(10) Jung, S. Y.; Seo, Y. G.; Kim, G. K.; Woo, J. S.; Yong, C. S.; Choi, H. G. Comparison of the solubility and pharmacokinetics of sildenafil salts. *Arch. Pharmacal Res.* **2011**, *34*, 451−454.

(11) Žegarac, M.; Lekšić, E.; Šket, P.; Plavec, J.; Bogdanović, M. D.; Bučar, D. K.; Dumić, M.; Meštrović, E. A sildenafil cocrystal based on acetylsalicylic acid exhibits an enhanced intrinsic dissolution rate. *CrystEngComm* **2014**, *16*, 32−35.

(12) Sanphui, P.; Tothadi, S.; Ganguly, S.; Desiraju, G. R. Salt and Cocrystals of Sildenafil with Dicarboxylic Acids: Solubility and Pharmacokinetic Advantage of the Glutarate Salt. *Mol. Pharmaceutics* **2013**, *10*, 4687−4697.

(13) Stepanovs, D.; Mishnev, A. Molecular and Crystal Structure of Sildenafil Base. *Z. Naturforsch., B: J. Chem. Sci.* **2012**, *67*, 491−494 CSD code QEGTUT. .

(14) Wang, C.; Perumalla, S. R.; Sun, C. C. Anion Exchange Reaction for Preparing Acesulfame Solid Forms. *Cryst. Growth Des.* **2018**, *18*, 4215−4219.

(15) Barbas, R.; Font-Bardia, M.; Prohens, R. Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate. *Cryst. Growth Des.* **2018**, *18*, 3740−3746.

(16) Barbas, R.; Prohens, R.; Font-Bardia, M.; Bauzá, A.; Frontera, A. Hydrogen bonding versus π-interactions: their key competition in sildenafil solvates. *CrystEngComm* **2018**, *20*, 4526−4530.

(17) Cresset torchV10lite. http://www.cresset-group.com/products/torch/torchlite/.

(18) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2009.

(19) Calero, C. S.; Farwer, J.; Gardiner, E. J.; Hunter, C. A.; Mackey, M.; Scuderi, S.; Thompson, S.; Vinter, J. G. Footprinting molecular electrostatic potential surfaces for calculation of solvation energies. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 18262−18273.

(20) *SADABS Bruker AXS*; Madison, Wisconsin, USA, 2004; *SAINT, Software Users Guide*, Version 6.0; Bruker Analytical X-ray Systems: Madison, WI, 1999. Sheldrick, G. M. *SADABS* v2.03; Area-Detector Absorption Correction; University of Göttingen: Germany, 1999. *Saint*, Version 7.60A; Bruker AXS 2008; SADABS, V. 2008-1, 2008.

(21) Sheldrick, G. M. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **2008**, *64*, 112−122.

(22) Boultif, A.; Louër, D. Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method. *J. Appl. Crystallogr.* **1991**, *24*, 987−993.

(23) Musumeci, D.; Hunter, C. A.; Prohens, R.; Scuderi, S.; McCabe, J. F. Virtual cocrystal screening. *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 883−890.

(24) Grecu, T.; Hunter, C. A.; McCabe, J.; Gardiner, E. J.; McCabe, J. F. Validation of a Computational Cocrystal Prediction Tool: Comparison of Virtual and Experimental Cocrystal Screening Results. *Cryst. Growth Des.* **2014**, *14*, 165−171.

(25) Hunter, C. A. A surface site interaction model for the properties of liquids at equilibrium. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1687−1700.

(26) Hunter, C. A. Quantifying Intermolecular Interactions: Guidelines for the Molecular Recognition Toolbox. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5310−5324.

(27) Etter, M. C. Hydrogen Bonds as Design Elements in Organic Chemistry. *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 4601−4610.

(28) Aakeroy, C. B.; Desper, J.; Smith, M. M. Constructing, deconstructing, and reconstructing ternary supermolecules. *Chem. Commun.* **2007**, 3936−3938.

(29) Grecu, T.; Prohens, R.; McCabe, J. F.; Carrington, E. J.; Wright, J. S.; Brammer, L.; Hunter, C. A. Cocrystals of spironolactone and griseofulvin based on an in silico screening method. *CrystEngComm* **2017**, *19*, 3592−3599.

(30) Grecu, T.; Adams, H.; Hunter, C. A.; McCabe, J. F.; Portell, A.; Prohens, R. Virtual Screening Identifies New Cocrystals of Nalidixic Acid. *Cryst. Growth Des.* **2014**, *14*, 1749−1755.

(31) International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC); Stahl, P. H.; Wermuth, C. G., Eds.; *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*; Wiley-VCH: New York, 2002.

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

(32) Childs, S. L.; Stahly, G. P.; Park, A. The Salt-Cocrystal Continuum: The Influence of Crystal Structure on Ionization State. *Mol. Pharmaceutics* **2007**, *4*, 323−338.
(33) Cruz-Cabeza, A. J. Acid−base crystalline complexes and the pKa rule. *CrystEngComm* **2012**, *14*, 6362−6365.
(34) Gobry, V.; Bouchard, G.; Carrupt, P. A.; Testa, B.; Girault, H. H. Physicochemical Characterization of Sildenafil: Ionization, Lipophilicity Behavior, and Ionic-Partition Diagram Studied by Two-Phase Titration and Electrochemistry. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1465−1474.
(35) pK_a value: Musialik, M.; Kuzmicz, R.; Pawlowski, T. S.; Litwinienko, G. Acidity of Hydroxyl Groups: An Overlooked Influence on Antiradical Properties of Flavonoids. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2699−2709.
(36) pKa values: FooDB Database. http://foodb.ca/.
(37) pKa values: Internet Bond-energy Databank (iBonD). http://ibond.chem.tsinghua.edu.cn.
(38) pK_a values: Tao, L.; Han, J.; Tao, F. M. Correlations and Predictions of Carboxylic Acid pKa Values Using Intermolecular Structure and Properties of Hydrogen-Bonded Complexes. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 775−782.
(39) Jacobs, A.; Amombo Noa, F. M. Hybrid Salt-Cocrystal Solvate: *p*-Coumaric Acid and Quinine System. *J. Chem. Crystallogr.* **2014**, *44*, 57−62.
(40) Mahieux, J.; Gonella, S.; Sanselme, M.; Coquerel, G. Crystal structure of a hybrid salt−cocrystal and its resolution by preferential crystallization: ((±)trans-N,N′-dibenzyldiaminocyclohexane)(2,3-dichlorophenylacetic acid)$_4$. *CrystEngComm* **2012**, *14*, 103−111.
(41) Aakeröy, C. B.; Fasulo, M. E.; Desper, J. Cocrystal or Salt: Does It Really Matter? *Mol. Pharmaceutics* **2007**, *4*, 317−322.
(42) Methanol, ethanol, IPA, butanol, 1-propanediaol, glycerol, ethylene glycol, 2-methoxyethanol, 1-propanol, 1-pentanol, 1-octanol, 2,2,2-trifluoroethanol, benzyl alcohol, ACN, propionitrile, MEK, acetone, MiBK, water, DMF, DMSO, pentane, heptane, cyclohexane, hexane, methylcyclohexane, toluene, xylene, mesitylene, anisole, 2-nitrotoluene, nitrobenzene, AcOEt, isopropyl acetate, diethylether, THF, 1-methyl-2-pyrrolidone, dimethyl ethylene glycol, diisopropyl ether, dioxane, iodomethane, dichloromethane, 1,2-dichlorothane, chloroform, 1,1,1-trichloroethane, 1,1,2-trichloroethane, formic acid, acetic acid, trifluoroacetic acid, propanoic acid, NH3 (32%) in water, diethylamine, trimethylamine and pyridine.
(43) Sanphui, P.; Tothadi, S.; Ganguly, S.; Desiraju, G. R. Salt and Cocrystals of Sildenafil with Dicarboxylic Acids: Solubility and Pharmacokinetic Advantage of the Glutarate Salt. *Mol. Pharmaceutics* **2013**, *10*, 4687−4697.

DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01413
Cryst. Growth Des. 2018, 18, 7618−7627

3.4 Article 4. *H-Bonded anion–anion complexes in fentanyl citrate polymorphs and solvates*

Chemical Communications, **2019**, 55, 115-118

Rafael Barbas,[1] Rafel Prohens,[1,2] Antonio Bauzá,[3]
Antonio Franconetti[3] and Antonio Frontera[3]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain.*

[3] *Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma (Baleares), Spain.*

ChemComm

COMMUNICATION

View Article Online
View Journal | View Issue

Check for updates

Cite this: *Chem. Commun.*, 2019, 55, 115

Received 13th November 2018,
Accepted 26th November 2018

DOI: 10.1039/c8cc09028a

rsc.li/chemcomm

H-Bonded anion–anion complexes in fentanyl citrate polymorphs and solvates†

Rafael Barbas, [a] Rafel Prohens, *[ab] Antonio Bauzá, [c] Antonio Franconetti [c] and Antonio Frontera *[c]

Herein we report the experimental observation (X-ray characterization) of two different binding modes in H-bonded anion–anion complexes (anion = citrate) in *N*-(1-(2-phenylethyl)-4-piperidinylium)-*N*-phenyl-propanamide-citrate (fentanyl citrate). High level DFT calculations indicate that both types of anion–anion complexes (one with two and the other with four H-bonds) are thermodynamically unstable but kinetically stable with respect to the isolated anions with activation barriers as high as 14 kcal mol^{-1}.

Fentanyl (F) is a synthetic opioid analgesic first developed in the early 1970s which is 50 to 100 times more potent than morphine but with a greater margin of cardiovascular safety.[1] Due to its very low solubility in water (81 μg mL^{-1}), the more water-soluble fentanyl citrate salt is used in injection formulations.[2] It is well known that the crystalline form and hydration state, as well as the interactions between substances at the molecular level affect the properties of active pharmaceutical ingredients (APIs).[3] Changes in properties of APIs strongly influence the chemical stability, solubility, and finally performance of the dosage form.[4] Therefore, it is considered important to understand the molecular behaviour of APIs in the solid state.[5]

The investigation of anion–anion complexes has attracted considerable attention in recent years. In particular, anion–anion hydrogen-bonded cluster minima in the absence of solvent have been reported and studied theoretically.[6] The existence of a dissociation barrier makes these minima stable, although their overall binding energy is repulsive.[6c,d] Obviously, purely electrostatic forces dominate the interaction that is repulsive in the case of systems with the same charge. Recent analysis reported in the literature evidences that the nature of the $[R–COOH\cdots HOOC–R]^{2-}$ H-bonds in these minima structures is identical to those in neutral systems in terms of geometry and attractive electrostatic contributions between the carboxylic groups embraced in the HB interaction, which are precisely responsible for the existence of such minima.[7]

At long distances, the repulsion between both anions is stronger than the H-bonding. However, at distances close to the sum of van der Waals radii the formation of a kinetically stable anti-electrostatic assembly is feasible. For example, phosphate aggregates have dissociation barriers as large as ~17 kcal mol^{-1},[6e,f] thus explaining the formation of phosphate dimers $[H_2PO_4\cdots H_2PO_4]^{2-}$ in near-saturated solutions.[8] Moreover, it has been reported that hydrogen oxalate forms hydrogen bonded chains in the solid state.[9] Furthermore, the X-ray structure of an anion–anion hydrogenfumarate complex that is stabilized by H-bonds and a combination of anion/lp–π interactions that is trapped between two secondary squaramide receptors has been recently reported.[10] High level *ab initio* calculations showed that the anion–anion complex was thermodynamically unstable but kinetically stable with respect to the isolated anions with an activation barrier close to 6 kcal mol^{-1}.

Here we report the synthesis and solid state X-ray characterization of three fentanyl citrate solid forms (**1–3**), see Scheme 1b. In the three structures the citrate anions form either self-assembled dimers (**1**,**2**) or an infinite 1D supramolecular chain (**3**) governed by H-bonded interactions. Two different types of anion–anion complexes are observed in the solid state (see Scheme 1c and d) which have been studied using DFT calculations. The kinetic stability of such anion–anion complexes has been analysed and, remarkably, they exhibit high dissociation barriers.‡

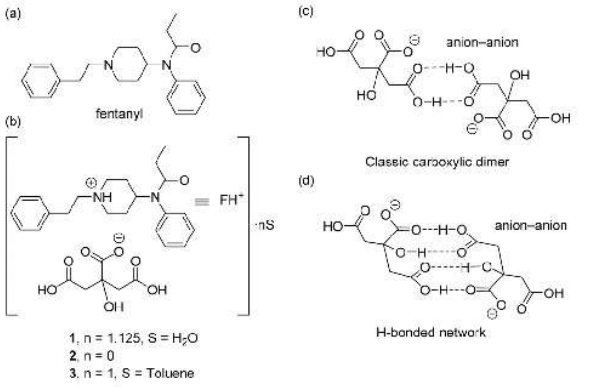
With the initial objective of extending the knowledge about the solid form landscape of this important drug compound, an extensive polymorph screening has been performed (ESI† contains details of the methodologies followed). As a result, six crystal forms (three anhydrous polymorphs, two hydrates and one toluene solvate) have been isolated and the crystal structures

[a] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain. E-mail: rafel@ccit.ub.edu*

[b] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering, S.L., Spain*

[c] *Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma (Illes Balears), Spain. E-mail: toni.frontera@uib.es*

† Electronic supplementary information (ESI) available: Experimental protocols and DFT calculation details. Crystal data for **1–3**. CCDC 1877765, 1877766 and 1877768. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c8cc09028a



Scheme 1 (a) Structure of fentanyl. (b) Solid forms of fentanyl citrate **1–3** reported herein. (c and d) H-Bonding patterns of the anion–anion assemblies observed in compounds **1** and **2**.

of anhydrous form I, the monohydrate and the toluene solvate have been solved by single crystal X-ray diffraction.

It should be mentioned that the X-ray structure of compound **2** was previously reported by Duchanp *et al.*,[11] though its 3D coordinates are not available in the Cambridge Structural Database (CSD). Moreover, compound **3** (toluene solvate) was also reported;[12] however, the X-ray structure reported herein is of better quality since it has been elucidated at low temperature (100 K) and exhibits a better resolution factor.

The crystal structures of fentanyl citrate salts **1** and **2** are shown in Fig. 1. Both present self-assembled citrate dimers that are connected to FH^+ units by H-bonds through the piperidinylium groups. In the case of compound **1**, the anion–anion complex is stabilized by two H-bonds that are formed between the carboxylic groups. In case of compound **2**, the complex is stabilized by the formation of four H-bonds where two carboxylic, two hydroxyl and two carboxylate groups are involved (see Fig. 1b).

The crystal structure of fentanyl citrate salt **3** is shown in Fig. 2. In this case the citrate anions form infinite 1D chains. The H-bond network that connects the citrate anions in **3** is similar to that represented in Fig. 1b for **2** (see Fig. S1, ESI†). The presence of channels formed by the fentanyl moieties that are of adequate size and shape to accommodate an infinite zigzag chain of citrate anions is remarkable (see Fig. 2c). The anions also interact with the fentanyl moieties by means of charge-assisted H-bonds with the piperidinylium groups.

On the other hand, layers of toluene molecules establish weak CH···π interactions with both the aromatic rings of the fentanyl molecule in an alternate manner. Thus, the toluene molecules interact simultaneously as C–H acceptors with the benzyl ring ($d_{\text{H-centroid}}$ 2.57 Å) and as C–H donors ($d_{\text{H-centroid}}$ 2.88 Å) with the *N*-phenylamide ring. Moreover, the fentanyl molecules form one-dimensional self-assembled chains *via* C–H···π interactions ($d_{\text{H-centroid}}$ 2.81 Å and 2.99 Å). The complete network of CH···π interactions is shown in Fig. 3.

As aforementioned, the theoretical study has been focused on the analysis of the anti-electrostatic H-bonds that are established between the citrate anions. We have computed (see ESI† for details)

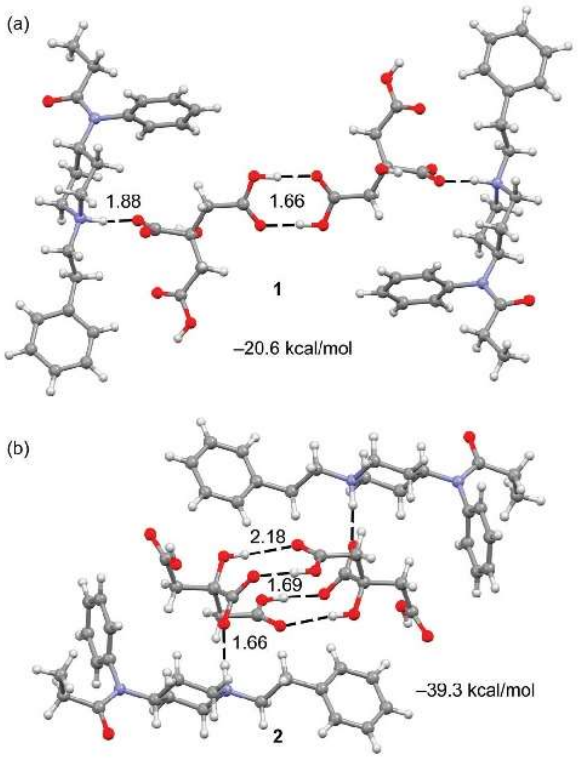


Fig. 1 Self assembled dimers present in the X-ray structures of **1** (a) and **2** (b) with indication of the H-bond arrays. Distances in Å.

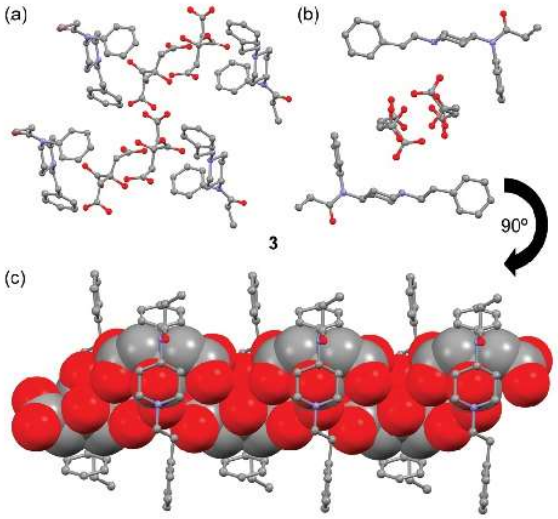


Fig. 2 (a) Partial view of the X-ray structure of **3**. (b) Detail of the channel that is formed in the crystal structure of **3**. (c) Detail of the citrate chains (in spacefill format) inside the channel.

the interaction energies using high level DFT calculations (PBE0-D3/def2-TZVP). Fig. 4 shows the optimized geometries of the two different anion–anion complexes present in forms **1** and **2**, which are true minima in the potential energy surface (PES).

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2019

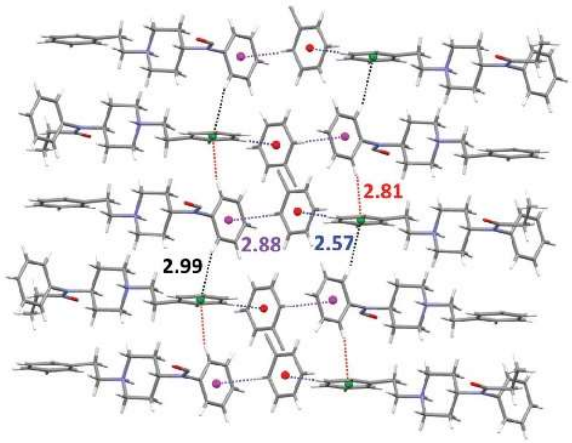


Fig. 3 Network of CH···π interactions in **3** showing CH···centroid distances in Å.

Their interaction energies are also indicated in the figure. The simple COOH···HOOC binding mode leads to the most stable anion–anion complex that is 11.5 kcal mol^{-1} higher in energy than the separated monomers. The H-bonding network observed in **2**, where four H-bonds are formed (see Fig. 4b), is 3.7 kcal mol^{-1} less favored than the classical carboxylic acid dimer binding motif (see Fig. 4a). This is mostly due to the different distance between the negative charges, which is longer in the anion–anion complex observed in **1** ($d_{O\cdots O}$ = 12.7 Å in **1** and 5.9 Å in **2**).

Interestingly, when the counterions are included in the calculations, the binding energies become negative (favorable,

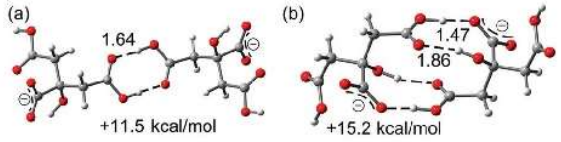


Fig. 4 Two different binding modes for the anion–anion complexes: classical H-bonding array in **1** (a) and H-bonding network in **2** (b). Distances in Å.

see Fig. 1) and the assembly with the four H-bonds is significantly more favorable (18.7 kcal mol^{-1}) than that where only the classical carboxylic acid dimer is formed. The H-bonding distances are shorter in the optimized dimers than in the X-ray structures, especially in the dimer with the H-bonding network. This is due to the fact that crystal packing effects are not considered in the calculations.

The observation of a metastable structure exhibiting positive interaction energy is only feasible if a local minimum exists in the PES along with an associated dissociation barrier that avoids the monomers to spontaneously separate. The dissociation scan plots for the two binding modes described above for compounds **1** and **2** are shown in Fig. 5. Interestingly, the dissociation barriers are large in both cases (11.8 kcal mol^{-1} in **1** 14.1 kcal mol^{-1} in **2**), thus suggesting a marked kinetic stability of the anion–anion citrate dimers. We have also computed the barriers taking into consideration the solvent effects (see ESI†) as recommended by Riley and Tran[13] to better simulate the crystal environment and the kinetic barriers increase to 17.9 kcal mol^{-1} for **1** and 22.2 kcal mol^{-1} for **2**. The kinetic stability is stronger in **2** because four H-bonds are broken in the TS. Interestingly, the C···C distances in the TS are very long (6.148 Å, for **1** and 8.643 Å for **2**) and correspond to approximately 4 Å for the OH···O distance. At C···C distances longer than 9 Å the H-bonds are completely broken and the dissociation path converges to the imaginary curve (red dashed line) that corresponds to the potential energy of two isolated negative point charges located at the position of the carboxylate groups. At C–C distances shorter than 8 Å the dissociation path and the local minimum are situated below this imaginary curve due to the stabilization of the H-bonds.

Finally, we have also performed an NCI plot index analysis to characterize the anti-electrostatic H-bonds in both types of dimers. The NCI plot is a useful and powerful index because it facilitates the visualization and identification of non-covalent interactions easily and efficiently.[14] It is based on the peaks that appear in the reduced density gradient at low densities (see ref. 15 for a more comprehensive treatment). In essence, upon the formation of a supramolecular complex, there is a significant

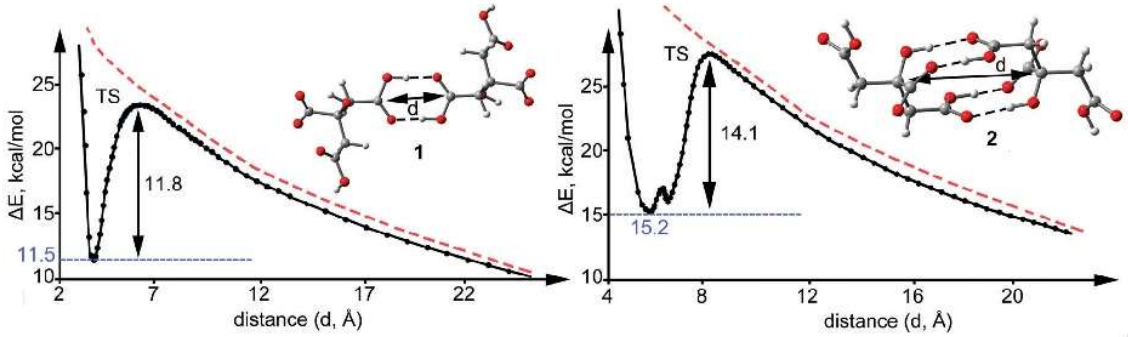


Fig. 5 Dissociation path of the anionic complexes **1** (left) and **2** (right) in the gas phase (see ESI† for details). Δ*E* and *d* stand for the interaction energy and the C···C distance indicated in the figure, respectively. Red dashed lines correspond to the potential energy curve of two isolated negative point charges located at the position of the carboxylate groups.

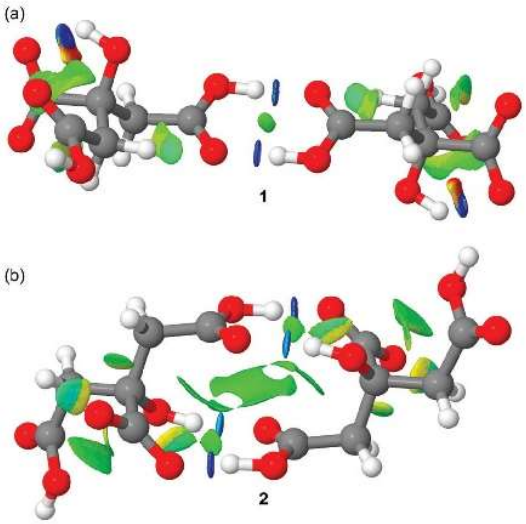


Fig. 6 Distribution of bond critical points (CPs, green spheres) and bond paths connecting them. Intramolecular bond CPs and bond paths have been omitted for clarity.

change in the reduced density gradient at the critical points in between molecules due to the annihilation of the density gradient at these points. Therefore, the NCI plot index assesses host–guest complementarity in supramolecular complexes efficiently. That is, it helps to visualize the extent to which noncovalent interactions stabilize a complex. The information that the NCI plot provides is fundamentally qualitative showing which molecular regions interact. The color scheme is a red-yellow-green-blue scale with red for repulsive (ρ^{+}_{cut}) and blue for attractive (ρ^{-}_{cut}). The yellow and green surfaces represent weak repulsive and weak attractive forces, respectively. The representations of the NCI plots computed for the citrate anion–anion self-assembled dimers are shown in Fig. 6. In the self-assembled dimer of **1**, two dark blue isosurfaces are detected that characterize the classical COOH···HOOC H-bonds. Therefore, the nature of these H-bonds is strongly attractive and counteracts the electrostatic repulsion between the negative charges. This result explains the deep local minimum found in Fig. 5(left) and the kinetic stability of the dimer. For the self-assembled dimer observed in compound **2** a more complicated NCI plot representation was obtained (see Fig. 6b). As expected the COOH···$^{-}$OOC are stronger (darker blue) than those involving the hydroxyl group (OH···O=C). The NCI plot also reveals the presence of an extended green isosurface (weak interaction) between the COOH groups, thus suggesting the existence of some type of π-stacking interaction between the π-systems of the COOH groups. This intricate combination of interactions (four H-bonds and π-stacking) explains the larger dissociation barrier obtained for compound **2**.

In conclusion, we have reported the X-ray structures of three fentanyl citrate salts that exhibit anion–anion complexes stabilized by H-bonds. The formation of the complexes is thermodynamically disfavored since they are higher in energy than the separated monomers (anions). However, they are kinetically stable with large dissociation barriers. Since carboxylate salts are very common in the formulation of pharmaceutical drugs, we envisage that the results published herein may be relevant, since the anion–anion interactions can help to understand some of the solid state characteristics affecting the properties of active pharmaceutical ingredients.

We thank the MINECO/AEI (project CTQ2017-85821-R FEDER funds) for financial support. A. F. thanks MINECO/AEI from SPAIN for a "Juan de la Cierva" contract. We thank Antoni Caparrós and Susana Portillo (Kern Pharma) for providing us with fentanyl citrate and Dr Mercè Font-Bardia (University of Barcelona) for X-ray measurements.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Notes and references

‡ Procedure for the preparation of crystals of **1–3** suitable for X-ray crystallography and DFT protocols: see ESI.†

1 R. S. Vardanyan and V. J. Hruby, *Future Med. Chem.*, 2014, **6**, 385–412.
2 N. Ogawa, T. Furuishi, H. Nagase, T. Endo, C. Takahashi, H. Yamamoto, Y. Kawashima, T. Loftsson, M. Kobayashi and H. Ueda, *J. Pharm. Pharmacol.*, 2016, **68**, 588–598.
3 (*a*) Y. Aso, S. Yoshioka, T. Miyazaki and T. Kawanishi, *Chem. Pharm. Bull.*, 2009, **57**, 61–64; (*b*) Y. Aso, S. Yoshioka, T. Miyazaki, T. Kawanishi, K. Tanaka, S. Kitamura, A. Takakura, T. Hayashi and N. Muranushi, *Chem. Pharm. Bull.*, 2007, **55**, 1227–1231; (*c*) S. Yoshioka and Y. Aso, *J. Pharm. Sci.*, 2007, **96**, 960–981; (*d*) B. Rodríguez-Spong, C. P. Price, A. Jayasankar, A. J. Matzger and N. Rodríguez-Hornedo, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2004, **56**, 241–274; (*e*) A. Jayasankar, L. Roy and N. Rodríguez-Hornedo, *J. Pharm. Sci.*, 2010, **99**, 3977–3985.
4 K. Yamamoto, W. Limwikrant and K. Moribe, *Chem. Pharm. Bull.*, 2011, **59**, 147–154.
5 N. Ogawa, C. Takahashi and H. Yamamoto, *J. Pharm. Sci.*, 2015, **104**, 942–954.
6 (*a*) F. Weinhold, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2017, **56**, 14577–14581; (*b*) T. J. Mooibroek, *CrystEngComm*, 2017, **19**, 4485–4488; (*c*) A. Bauzá, A. Frontera and T. J. Mooibroek, *Nat. Commun.*, 2017, **8**, 14522; (*d*) A. Bauza, A. Frontera, T. J. Mooibroek and J. Reedijk, *CrystEngComm*, 2015, **17**, 3768–3771; (*e*) S. R. Kass, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 13098–13099; (*f*) I. Mata, I. Alkorta, E. Molins and E. Espinosa, *ChemPhysChem*, 2012, **13**, 1421–1424; (*g*) I. Mata, I. Alkorta, E. Molins and E. Espinosa, *Chem. Phys. Lett.*, 2013, **555**, 106–109; (*h*) F. Weinhold and R. A. Klein, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, **53**, 11214–11217; (*i*) I. Mata, E. Molins, I. Alkorta and E. Espinosa, *J. Phys. Chem. A*, 2015, **119**, 183–194.
7 (*a*) G. Frenking and G. F. Caramori, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2015, **54**, 2596–2599; (*b*) I. Alkorta, I. Mata, E. Molins and E. Espinosa, *Chem. – Eur. J.*, 2016, **22**, 9226–9234.
8 M. K. Cerreta and K. A. Berglund, *J. Cryst. Growth*, 1987, **84**, 577–588.
9 (*a*) M. Mascal, C. E. Marjo and A. J. Blake, *Chem. Commun.*, 2000, 1591–1592; (*b*) P. Macchi, B. B. Iversen, A. Sironi, B. C. Chakoumakos and F. K. Larsen, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2000, **39**, 2719–2721; (*c*) T. Steiner, *Chem. Commun.*, 1999, 2299–2300; (*d*) D. Braga, F. Grepionia and J. J. Novoa, *Chem. Commun.*, 1998, 1959–1960.
10 R. Prohens, A. Portell, M. Font-Bardia, A. Bauzá and A. Frontera, *Chem. Commun.*, 2018, **54**, 1841–1844.
11 D. J. Duchamp, E. C. Olson and C. G. Chidester, *Am. Cryst. Association, Series 2*, 1977, **5**, 83.
12 O. M. Peeters, N. M. Blaton, C. J. De Ranter, A. M. van Herk and K. Goubitz, *J. Cryst. Mol. Struct.*, 1979, **9**, 153–161.
13 K. E. Riley and K.-A. Tran, *Faraday Discuss.*, 2017, **203**, 47–60.
14 J. Contreras-García, E. R. Johnson, S. Keinan, R. Chaudret, J.-P. Piquemal, D. N. Beratan and W. Yang, *J. Chem. Theory Comput.*, 2011, **7**, 625–632.
15 E. R. Johnson, S. Keinan, P. Mori-Sanchez, J. Contreras-Garcia, A. J. Cohen and W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 6498–6506.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2019

3.5 Patent. *Crystalline forms of beta-sitosterol*

Patent WO2018/234540A1 (**2018**)

Rafael Barbas,[1] Anna Portell,[1] Rafel Prohens,[1,2]
Mariona Palou,[3] Francisca Serra[3] and Andreu Palou[3]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Isaac Newton s/n, edificio Disset, local A5, ParcBIT, 07121 Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain.*

[3] *Alimentomica S. L., Crta. de Son Garreta, km 0.8, polígon 11, 07310 Campanet (Baleares), Spain.*

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
27 December 2018 (27.12.2018)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2018/234540 A1

(51) International Patent Classification:
C07J 9/00 (2006.01) *A61P 3/06* (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2018/066745

(22) International Filing Date:
22 June 2018 (22.06.2018)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
17382390.7 22 June 2017 (22.06.2017) EP

(71) Applicants: **CENTER FOR INTELLIGENT RESEARCH IN CRYSTAL ENGINEERING, S.L.** [ES/ES]; C. Isaac Newton s/n, Edificio Disset, local A5, ParcBIT, 07121 PALMA DE MALLORCA (ES). **ALIMENTOMICA, S.L.** [ES/ES]; Carretera de Son Garreta km 0,8, Polígono 11, 07310 CAMPANET (ES).

(72) Inventors: **PROHENS LÓPEZ, Rafel**; Escola Pia, 32, 1º 2ª, 08201 SABADELL (ES). **BARBAS CAÑERO, Rafael**; Avenida Anselm de Riu,76, entresuelo 1ª, 08924 SANTA COLOMA DE GRAMENET (ES). **PORTELL BUESO, Anna**; Creueta, 100, esc 1ª, 2º, 2ª, 08202 SABADELL (ES). **PALOU MARCH, Mariona**; C. Dofí, 22, 07670 PORTOCOLOM (ES). **SERRA VICH, Francisca**; C. Ripoll 42 local 1, 07620 LLUCMAJOR (ES). **PALOU MARCH, Andreu**; C. Margaritas 17, 07193 PALMAÑOLA (ES).

(74) Agent: **ZBM PATENTS - ZEA, BARLOCCI & MARKVARDSEN**; Pl. Catalunya, 1 2nd floor, 08002 BARCELONA (ES).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:
— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*

Published:
— *with international search report (Art. 21(3))*
— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*

WO 2018/234540 A1

(54) Title: CRYSTALLINE FORMS OF BETA-SITOSTEROL

(57) Abstract: The present invention relates to a cocrystal of beta-sitosterol or a pharmaceutically acceptable ester thereof or an edible acceptable ester thereof and an organic carboxylic acid coformer, an hydrate crystal form of beta-sitosterol having 1.25 molecules of water per molecule of beta-sitosterol and a combination that comprises a cocrystal of beta-sitosterol and an organic carboxylic acid; and the hydrate crystal form of beta-sitosterol having 1.25 molecules of water per molecule of beta-sitosterol. It also relates to processes for their preparation, and compositions containing them, as well as their use as a medicament or dietary supplement or functional food, and in particular in the prophylaxis and/or treatment of a disease or conditions that involves an alteration of lipid metabolism, circulating levels of lipids in the blood and/or lipid composition in tissues and organs.

CAPÍTOL 4. DISCUSSIÓ

La certesa d'estar desenvolupant la forma sòlida del principi actiu més adient per a ser subministrada només es pot confirmar quan es realitza un estudi complert de l'estat sòlid del compost. Durant aquestes dues últimes dècades no s'ha publicat cap *screening* experimental que defineixi quines són les condicions experimentals òptimes que garanteixen el descobriment de totes les formes sòlides possibles en les que pot existir un compost. S'han publicat nombroses metodologies generals amb base teòrica i experimental, en funció de la recerca que es vulgui dur a terme, però, amb tot, l'única certesa és que les propietats intrínseques del compost a estudiar són les que condicionen el disseny experimental.

L'objectiu de dissenyar i optimitzar una sèrie de metodologies experimentals generals per part de la Unitat de Polimorfisme i Calorimetria dels Centres Científics i Tecnològics va sorgir en els darrers anys arran de la necessitat d'establir una manera de treballar de forma semi-automàtica, intentar cobrir el més ampli espectre de condicions experimentals de cerca de noves formes amb els recursos que es disposen així com donar una ràpida resposta a les demandes de la indústria farmacèutica. El fet de formar part del R+D+i de les indústries farmacèutiques i el *feedback* que s'estableix amb elles ha permés incorporar, assimilar i adaptar les seves necessitats a la nostra manera de treballar a partir de la realització d'estudis d'estat de polimorfisme i de cocristalls de principis actius. Així doncs, la recerca que es desenvolupa a la Unitat va més enllà d'obtenir una determinada forma sòlida, optimitzar i definir el seu procediment de síntesi. També forma part d'aquesta recerca estudiar les interaccions supramoleculars de manera que s'adquireixi un coneixement que s'aplica de forma directa en el disseny experimental i durant la recerca de noves formes sòlides. Aquesta retroalimentació és contínua, fet que provoca una certa dinamització del disseny i del procediment experimental dins de la rutina que suposa la recerca de noves formes sòlides de principis actius.

Durant el transcurs d'aquesta tesi s'han desenvolupat i optimitzat una sèrie de metodologies experimentals generals que faciliten la recerca de noves formes sòlides independentment del principi actiu de partida. El disseny i l'optimització dels procediments experimentals s'han dut a terme a partir de l'estudi dels principis actius farmacèutics *sildenafil* i *citrat de fentanil* i del principi actiu nutracèutic *beta-sitosterol*. La selecció d'aquests principis actius ha estat en base a la seva disponibilitat, la seva rellevància, les diferents propietats fisicoquímiques i la variabilitat de grups funcionals presents en les seves estructures moleculars. En paral·lel s'han realitzat estudis amb altres principis actius, els resultats dels quals han ajudat a optimitzar els procediments experimentals desenvolupats. L'aplicació de les metodologies a través d'aquests casos pràctics i la caracterització estructural de les noves formes descobertes han generat cinc publicacions, quatre d'elles en forma d'articles i una en forma de patent.

4.1 Disseny experimental

El disseny experimental desenvolupat al llarg de la tesi s'ha realitzat prenent en consideració el següents aspectes o característiques, descrites en detall a continuació:

- El temps que es disposa per a realitzar l'estudi: la limitació del temps depèn de diferents factors (segons les estratègies de les companyies farmacèutiques, problemes amb la fase sòlida durant les etapes de síntesi, desenvolupament o formulació i la recerca de noves formes de cara a la seva protecció intel·lectual). En estar dissenyat com un procés dinàmic, la variabilitat d'experiments a

programar es pot adaptar a les necessitats de l'estudi en funció de quina sigui la seva finalitat.

- Les metodologies experimentals s'agrupen en funció de si es realitza un estudi de polimorfisme o de cocristalls/sals.
- Un pas previ, i necessari al disseny, és la recerca bibliogràfica del principi actiu i dels seus possibles coformadors que permeti explorar quines formes sòlides (amorf, polimorfs, pseudopolimorfs, sals o cocristalls) existeixen. Les principals bases de dades emprades són *SciFinder* i *espacenet* [190] les quals han permès cercar les publicacions (en forma d'articles i patents) que descriuen l'estat sòlid del principi actiu. Identificar la forma sòlida correctament, a partir de les dades de les publicacions, pot tenir una certa complexitat tal i com es mostra en el cas de la molècula d'Apixaban, [8] on diferents patents reivindiquen la mateixa forma cristal·lina. La principal finalitat d'aquesta recerca bibliogràfica és la d'estudiar si el compost de partida:
    - presenta polimorfisme: quants polimorfs existeixen i veure com està descrita l'estabilitat relativa dels seus polimorfs,
    - tendeix a formar hidrats o solvats. La tendència a formar hidrats dificultant la possible formació de formes anhidres implica que el disseny s'ha d'adaptar a treballar en condicions anhidres,
    - existeix en forma de sal o de cocristall. Aquest fet permet estudiar les interaccions intermoleculars i decidir quins coformadors nous es poden fer servir en base a aplicar els coneixement adquirits a través de l'enginyeria cristal·lina o a partir de tècniques computacionals que permeten predir, en base a càlculs teòrics, quins són els millors coformadors.
    - Respecte als coformadors seleccionats, la seva informació bibliogràfica facilita la interpretació dels resultats en relació al descobriment de noves formes sòlides del principi actiu o del coformador.
- El material de partida i grau de puresa química: la quantitat de sòlid de partida que es disposa condiciona la quantitat de mostra emprada per a cada experiment. Per mirar d'obtenir una bona caracterització s'ha treballat amb quantitats de entre10 i 50 mg per experiment. En aquells casos que s'han optimitzat els processos de síntesi s'han realitzat escalats amb quantitats de 500 mg fins a 10 g. El fet de treballar amb quantitats petites durant l'*screening* fa que el procediment experimental en el qual s'ha trobat una determinada forma s'hagi d'alterar durant l'escalat, fins i tot, canviar les condicions experimentals fins a arribar a una optimització del procés de síntesi que permeti reproduir la forma sòlida desitjada.
- Caracterització del lot de partida: la caracterització inicial es realitza per DSC, TGA, XRPD, DVS i ^{1}H-RMN. La finalitat és determinar el grau de puresa polimòrfica del lot de partida i comprovar quin polimorf (estable o metastable) és, d'acord amb la bibliografia. En funció de l'estabilitat tèrmica del sòlid, es poden dissenyar diferents experiments de *quenching from the melt*.
- Estudi de solubilitat qualitativa del compost en diferents dissolvents orgànics: és la base principal del disseny experimental desenvolupat durant la tesi. El disseny i el nombre de condicions experimentals depenen de la seva solubilitat.

Una ràpida caracterització de cadascun dels sòlids que s'obtenen a través del experiments dissenyats és un pas clau en l'avenç de l'estudi. La principal tècnica de caracterització emprada durant l'*screening* és la Difracció de Raigs X de pols (XRPD). La configuració utilitzada de forma majoritària és la de geometria de transmissió en mostra plana on la utilització d'un carrusel de 35 portamostres fa que l'estudi pugui progressar ràpidament.

Els temps de mesura són variables, en funció de si es troba en fase d'*screening*, caracterització final o resolució d'estructura cristal·lina partir de les dades de difracció de raigs X de pols. L'optimització de les condicions de mesura s'ha realitzat conjuntament amb la Unitat de Difracció de Raigs X i s'ha adaptat tant a la naturalesa del sòlid (compost orgànic) com a la quantitat de mostra disponible. La geometria de transmissió en mostra plana permet minimitzar el fenomen de l'orientació preferent (sòlids que presenten una certa direccionalitat específica dels cristalls) si es compara amb una configuració en geometria de reflexió. Una altra configuració utilitzada és la geometria de transmissió en mostra en capil·lar, on el problema de l'orientació preferent es minimitza i, de manera general, se'n pot fer ús per a la resolució d'estructures cristal·lines a partir de les dades de XRPD. Altres tècniques utilitzades per a la caracterització dels sòlids obtinguts són DSC, TGA, DVS, ^{1}H-RMN i difracció de raigs X de monocristall (SCXRD). En aquest sentit, és a través de la resolució de l'estructura cristal·lina mitjançant la SCXRD la que permet determinar tant la relació estequiomètrica entre els compostos en cristalls multicomponents així com concloure si hi ha una transferència de protó durant l'estudi de cocristal·lització/formació de sals.

Així doncs, un cop feta la cerca bibliogràfica i la caracterització inicial del principi actiu, el primer pas és determinar quina és la solubilitat qualitativa del compost (principi actiu i coformadors) en diferents dissolvents orgànics. La selecció d'aquests dissolvents s'ha fet en funció dels diferents grups en els quals Gu *et al.* [191] els van classificar. L'agrupació es realitza en base als paràmetres i les propietats següents: tendència a acceptar enllaç d'hidrogen, tendència a donar enllaç d'hidrogen, polaritat/dipolaritat, moment dipolar i constant dielèctrica, (Taula 4.1). El criteri de selecció té en compte la toxicitat dels dissolvents, però la seva toxicitat no és excloent per tal d'emprar-los en un *screening* degut al baix volum de treball i sempre que les noves formes tinguin un contingut acceptable de dissolvent en el cas de solvats. La llista de dissolvents emprats al llarg de la tesi per a la realització dels *screenings* es detallen a l'Apèndix G.

Taula 4.1. Agrupació dels diferents dissolvents orgànics en funció de les seves propietats

Grup 1	n-Dodecà, n-decà, ciclohexà, n-octà, n-hexà, n-heptà, *cis*-decalina, n-pentà, tetraclorur de carboni, tetracloroetilè
Grup 2	Acetat d'etil, sulfur de dietil, etanolat de propil, benzoat de metil, acetat de metil, acetat de butil, tetrahidrofurà, metil *tert*-butil èter, èter etílic, formiat d'etil, diisopropil èter, metanolat de metil, dibutilèter, dimetil disulfur
Grup 3	2-Metil-1-propanol, 2-butanol, 1-butanol, 2-metoxietanol, 1-pentanol, 2-propanol, 2-metil-2-propanol, 1-propanol, 1-octanol, etanol, morfolina, butilamine, metanol
Grup 4	*m*-Xilè, *p*-xilè, benzè, mesitilè, sulfur de carbonil, toluè
Grup 5	2-Hexanona, ciclopentanona, 2-pentanona, piridina, 4-metil-2-pentanona, ciclohexanona, 4-methilpiridina, 2-heptanona, 3-pentanona, acetofenona, butanona, 2,4-dimetilpiridina, acetona, 2,6-dimetilpiridina
Grup 6	*N,N*-dimetilacetamida, *N,N*-dimetilformamida, *N*-metil-2-pirrolidona, dimetilsulfòxid
Grup 7	1-Iodobutà, clorobenzè, fluorobenzè, 1,1,1-tricloroetà, dibromometà, diiodometà, 1,2-dibromoetà, cloroform, iodobenzè, anisol, bromoform, etil fenil èter, diclorometà, tricloroetilè, 1,1-dicloroetà, *o*-diclorobenzè, 1,2-dicloroetà
Grup 8	Àcid acètic, àcid propiònic, àcid pentanoic, *m*-cresol
Grup 9	Propionitril, benzonitril, acetonitril, butanonitril, nitrometà
Grup 10	Alcohol benzílic, anilina
Grup 11	Trietilamina, 1,4-dioxà
Grup 12	Àcid fòrmic, etilenglicol
Grup 13	Dietilamina
Grup 14	Glicerol
Grup 15	Aigua

Vam decidir fer la selecció dels dissolvents agafant com a mínim un de cada grup. Després, es determina qualitativament la solubilitat a diferents temperatures (temperatura ambient i alta temperatura) i es classifica el compost en un solvent determinat com soluble, parcialment soluble o insoluble per a cadascun dels dissolvents. Concretament vam decidir treballar amb 10 - 20 mg de sòlid de partida i afegint fins a un volum màxim de 1.0 - 2.0 mL de dissolvent.

Així doncs, la recerca bibliogràfica, la caracterització inicial i la determinació qualitativa de la solubilitat són fets comuns tant per a la realització d'un estudi de polimorfisme com de cocristalls. A continuació es detallen els procediments experimentals generals desenvolupats en funció de l'estudi de l'estat sòlid que es vulgui plantejar.

4.1.1 Estudi de polimorfisme

Una vegada determinada qualitativament la solubilitat del principi actiu, els procediments de treball es dissenyen en funció de si el compost és soluble a temperatura ambient o a alta temperatura, (Fig. 4.1). Aquells dissolvents on el compost és insoluble es fan servir com a antisolvents durant el disseny experimental. La variabilitat de procediments experimentals es dissenyen per assolir aquelles condicions termodinàmiques i cinètiques que explorin el màxim el panorama polimòrfic de l'API. Els principals procediments experimentals generals emprats per a un estudi de polimorfisme es detallen a continuació:

- Condicions termodinàmiques:
  - Evaporacions lentes: procediment experimental en el qual es preparen unes dissolucions saturades que s'evaporen a temperatura ambient.
  - Cristal·litzacions lentes per difusió d'antisolvent: procediment experimental en el qual es preparen dissolucions saturades sobre les quals es permet la difusió lenta d'antisolvents amb punt d'ebullició més baix.
  - Cristal·litzacions a velocitat lenta: procediment experimental en el qual es preparen dissolucions sobresaturades a alta temperatura les quals es permeten refredar lentament.
  - Suspensions: procediment experimental en el qual es preparen suspensions en diferents dissolvents a una temperatura determinada.
- Condicions cinètiques:
  - Cristal·litzacions a baixa temperatura: procediment experimental en el qual es preparen dissolucions saturades a temperatura ambient les quals es refreden entre 0 ºC i 4 ºC.
  - Precipitació per addició d'antisolvent: procediment experimental en el qual es preparen dissolucions saturades i sobre les quals s'addicionen ràpidament els antisolvents a temperatura ambient o a alta temperatura.
  - Cristal·litzacions a velocitat alta: procediment experimental en el qual es preparen dissolucions sobresaturades a una temperatura determinada les quals es refreden entre 0 ºC i 4 ºC ràpidament.

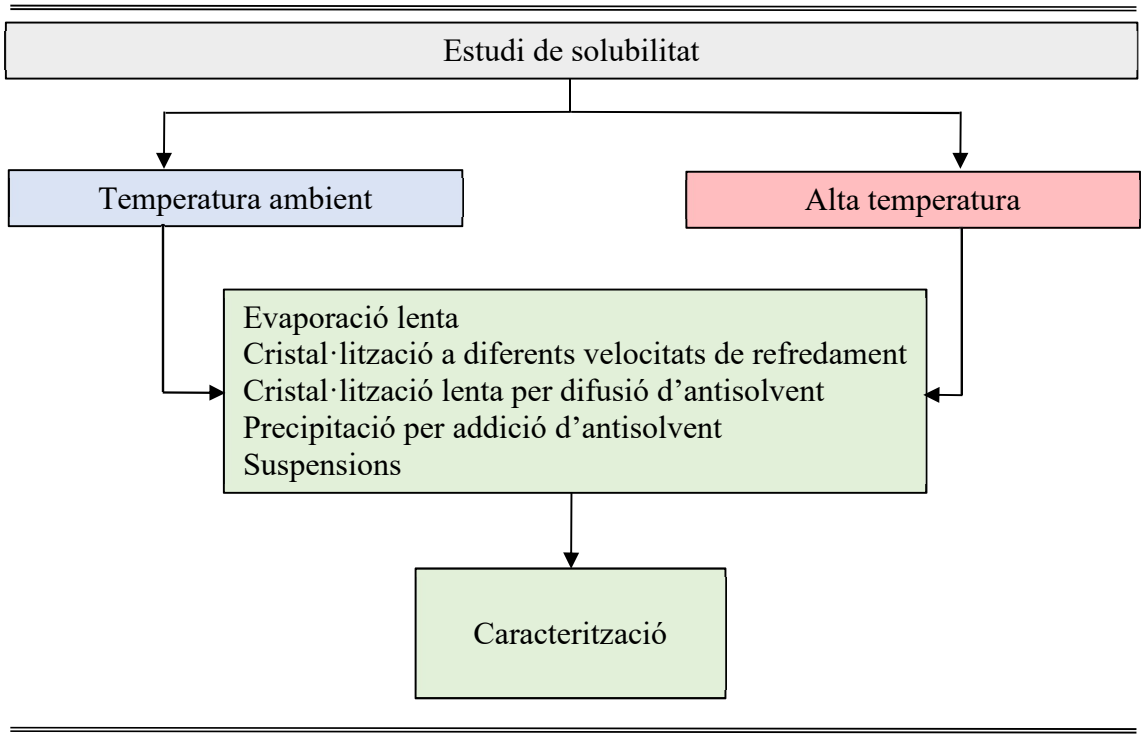


Fig. 4.1. Esquema general que defineix els procediments experimentals emprats per a un estudi de polimorfisme

Tots els sòlids obtinguts durant l'*screening* s'analitzen inicialment per XRPD i els que presenten una difracció de pols diferent a la del producte de partida i per tant, són una nova fase, també són caracteritzats per DSC, TGA i ^{1}H-RMN.

El fet d'obtenir hidrats i solvats durant l'*screening* és interessant degut a que també s'estudia la seva deshidratació/desolvatació. La desolvatació es realitza a alta temperatura o a través d'experiments de TGA on els sòlids s'escalfen fins a una temperatura per sobre de la temperatura de pèrdua del dissolvent. En aquest sentit, l'existència de solvats làbils, es a dir, aquells que desolvaten durant el procés de filtrat i secat, fa que s'hagin d'introduir nous procediments experimentals per tal d'identificar-los durant l'*screening*. Així doncs, la formació i identificació dels solvats làbils es pot realitzar a través de:

- Realitzar un filtrat de les dissolucions sense arribar a la sequedat total: la mesura d'un sòlid humit no interfereix de forma significativa en el difractograma de pols.
- Exposar el sòlid de partida en atmosfera de tots els dissolvents emprats en l'estudi de solubilitat: el sòlid s'analitza directament per XRPD.
- Obtenir un monocristall que confirmi la seva existència i que permeti identificar l'estequiometria de l'hidrat/solvat.

Una vegada identificades i caracteritzades les noves fases, s'estudia la seva estabilitat polimòrfica relativa, és a dir, si entre els polimorfs s'estableix una relació monotròpica o enantiotròpica, i es determina quin és el polimorf més estable i sota quines condicions. Així doncs, a través de la regla de la calor de fusió o de la regla de la calor de transició, es preparen unes suspensions equimolars de dos polimorfs en diferents dissolvents a diferents temps d'agitació (mínim 24 hores) i a una temperatura per sota o per sobre de la temperatura de transició.

Finalment, es realitza l'optimització del procés d'escalat. Durant aquesta etapa de vegades es requereix un canvi del procediment experimental en el qual s'ha obtingut una determinada forma durant l'*screening*.

4.1.2 Estudi de cocristalls

El primer pas, previ al disseny experimental, és decidir quins coformadors s'empren en l'estudi de cocristalls. El llistat de coformadors proposat es selecciona fonamentalment a través de tres criteris:

- En funció de la toxicitat del coformador. Principalment es seleccionen aquells coformadors que estiguin dins de les llistes SAF i GRAS. Amb tot, es poden utilitzar d'altres que estiguin fora d'aquestes llistes quan la recerca tingui una finalitat acadèmica.
- A partir dels coneixements adquirits en base a l'enginyeria cristal·lina. Es raona quins coformadors *a priori* poden interaccionar amb el principi actiu tenint el compte la variabilitat de grups funcionals de l'API i del coformador.
- En base a la utilització de tècniques computacionals que permeten predir en base a càlculs teòrics quins són els millors coformadors.

Definit el llistat de coformadors, es determinen qualitativament les solubilitats del principi actiu i dels coformadors. Els procediments de treball estan dissenyats en funció d'aquells dissolvents on ambdós compostos presentin una solubilitat similar, independentment de la temperatura, (Fig. 4.2). La variabilitat de procediments experimentals es dissenyen per assolir aquelles condicions termodinàmiques i cinètiques que produeixen la cocristal·lització. Els principals procediments experimentals generals emprats per a un estudi de cocristalls es detallen a continuació:

- Condicions cinètiques:
  - L'activació mecanoquímica (*ball milling*). És la principal tècnica d'*screening* de cocristalls degut a que és un procediment que permet posar en pràctica nombroses condicions experimentals, variant el grau de saturació dels components, en un espai de temps relativament curt. Les condicions que es poden variar són:
    - La relació molar API – coformador: inicialment es parteix d'una relació molar 1 a 1.
    - Diferents dissolvents: podem treballar sense emprar dissolvent (*net grinding*) o amb una gota de dissolvent (LAG).
    - Treballar en paral·lel amb diferents dissolvents/coformadors: s'ha treballat fins a un màxim de 8-12 dissolvents/coformadors per experiment.
    - Diferents freqüències de mòlta i amb diferents temps: ambdós factors s'han de regular si el sòlid tendeix a amorfitzar.

A partir dels indicis de noves fases cristal·lines observades mitjançant les anàlisis de XRPD de les mostres obtingudes a través dels experiments de *grinding*, és a dir, fases diferents a la de l'API i del coformador, es dissenyen els següents procediments experimentals a través dels quals es poden formar els cocristalls.

- Condicions termodinàmiques:
  - *Reaction crystallization*: és la principal tècnica emprada per a l'obtenció de cocristalls en dissolució. Es preparen dissolucions saturades del compost més soluble en aquells dissolvents en els quals s'han observat indicis i s'addiciona l'altre compost fins a generar una suspensió. De manera general, les suspensions es preparen a temperatura ambient i a diferents temps d'agitació (mínim 24 hores) en funció de la seva cinètica de cocristal·lització.
  - Cristal·litzacions a velocitat lenta: una vegada estimada la relació molar del cocristall a través de ^{1}H-RMN, es preparen dissolucions sobresaturades a temperatura ambient i a alta temperatura partint de les quantitats API – coformador necessàries. La finalitat d'aquests experiments és la d'obtenir un monocristall que permeti determinar amb precisió la relació molar del cocristall i per a aquells compostos que puguin plantejar el dubte de si s'ha format una sal o un cocristall.
  - Supensions (*Slurries*): coneguda la seva relació molar API - coformador, es poden preparar suspensions per a la formació del cocristall. Aquest procediment és el més adient per a realitzar un escalat del cocristall degut a que es redueixen les quantitats d'API i coformador necessàries per a obtenir una dissolució saturada imprescindible per a realitzar un procediment de *reaction crystallization*.

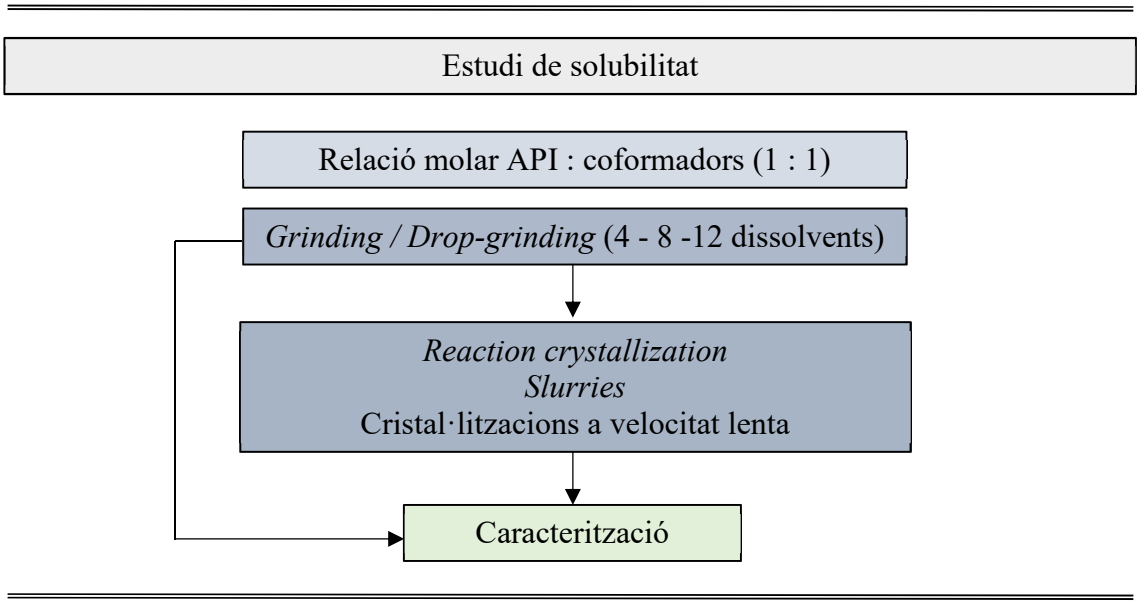


Fig. 4.2. Esquema general que defineix els procediments experimentals emprats per a un estudi de cocristalls

Efectuada la caracterització del cocristall, es realitza una optimització del procés d'escalat. De la mateixa manera que durant l'etapa d'escalat de polimorfs, aquesta etapa de vegades requereix un canvi del procediment experimental en el qual s'ha obtingut el cocristall. La finalitat d'aquesta etapa és la definir un procediment robust a escala de laboratori per tal d'obtenir una quantitat de sòlid (500 mg) suficient per a estudiar l'estabilitat del cocristall en funció de la humitat relativa i per a determinar si s'observa una millora de les propietats fisicoquímiques (velocitat de dissolució, solubilitat i mida de partícula) respecte a la del principi actiu.

4.2 Publicacions generades a partir de l'estudi de l'estat sòlid del principi actiu farmacèutic sildenafil (base lliure)

Aquest estudi és un exemple d'aplicabilitat de les metodologies d'*screening* de polimorfisme i cocristalls sobre un compost rellevant i àmpliament estudiat. Descobrir noves formes sòlides d'una molècula de la que ja existeixen més de quaranta fases descrites és un repte que, de manera indirecta, valida les metodologies desenvolupades durant la tesi. A més, la presència d'un grup funcional protonable és d'especial interès a l'hora de cercar nous cocristalls degut a la seva elevada tendència a formar sals.

L'objectiu inicial que es va plantejar era la realització d'un estudi de l'estat sòlid del principi actiu farmacèutic sildenafil per cercar noves formes cristal·lines que millorin les seves propietats fisicoquímiques. En base a aquesta finalitat, es va decidir estudiar el seu comportament polimòrfic i la possible formació de cocristalls.

Els precedents bibliogràfics del principi actiu van mostrar l'existència de divuit publicacions relacionades amb l'estat sòlid de la base lliure del sildenafil: set en forma de patents i onze en forma d'articles. L'estat sòlid d'aquest compost descrit fins a llavors era de quaranta-tres formes sòlides: una en forma d'anhidre, trenta-cinc en forma de sals, cinc en forma de cocristalls, una en forma de sal-cocristall i una en forma de complex amb glicerol.

A partir del disseny i l'optimització de les metodologies emprades per als estudis de polimorfisme i de cocristalls desenvolupades durant la tesi hem descobert trenta-una noves formes sòlides de la base lliure del sildenafil. A través de l'estudi de polimorfisme s'han descobert vuit formes sòlides: una nova forma anhidre i set solvats i mitjançant l'estudi de cocristalls s'han descobert vint-i-tres formes sòlides: cinc en forma de cocristalls, catorze en forma de sals i quatre en forma d'híbrids sal-cocristall. A través de la síntesi, la caracterització i l'estudi de les estructures cristal·lines de les noves formes sòlides descobertes s'han generat tres articles.

4.2.1 Article 1: *Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate*

Descobrir que el nou polimorf metastable de la base lliure del sildenafil (*form II*) es forma a partir de la desolvatació del seu solvat d'ACN no va ser possible fins que es va resoldre l'estructura cristal·lina del solvat d'ACN. Al llarg de l'*screening* de polimorfisme la nova forma només s'obté a través de tots aquells procediments experimentals (suspensions, precipitacions, LAG) on el dissolvent ACN és present. En dissenyar uns experiments per mirar d'obtenir el seu monocristall en ACN i només resoldre l'estructura cristal·lina del solvat d'ACN (ACN_I) en comptes de la forma anhidre (*form II*), era indicatiu que ambdues formes estaven relacionades. Per altra banda, efectuant un filtrat sense sequedat total dels sòlids obtinguts a partir de les suspensions en ACN, de tal manera que el sòlid quedi humit i analitzant la mostra per XRPD, vam observar la formació d'un nou solvat d'ACN (ACN_{II}) amb relació molar 2:1 diferent al descrit per monocristall, (Fig. 4.3) La relació molar d'aquest nou solvat d'ACN es va deduir a partir de la indexació del seu difractograma de pols i de l'estimació del contingut de dissolvent que es perd al llarg de l'anàlisi per TGA.

Aquest cas és un bon exemple per recomanar la introducció dins dels estudis generals de polimorfisme i de cocristalls d'un procediment experimental paral·lel a l'estudi de

solubilitat qualitativa que no s'estava duent a terme fins a llavors en els estudis que es realitzaven en la Unitat de Polimorfisme i Calorimetria. Aquest nou procediment experimental consisteix en posar el principi actiu sota cadascuna de les atmosferes que generen els dissolvents que es vulguin emprar en l'estudi. El fet de no manipular la mostra i analitzar-la directament per XRPD fa que aquests tipus de solvats es puguin identificar fàcilment.

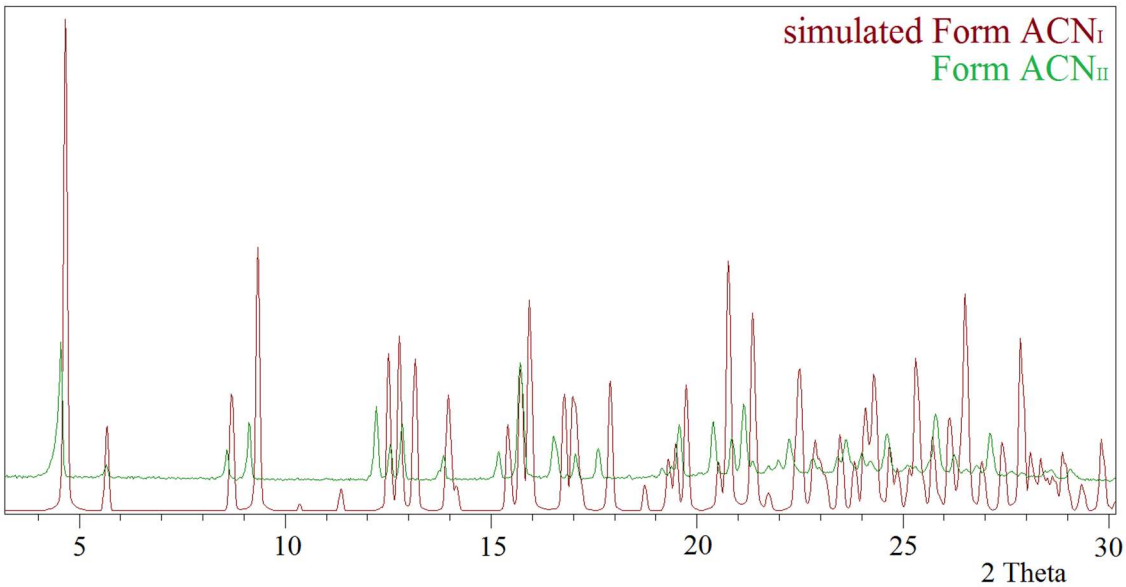


Fig. 4.3. Comparativa dels difractogrames de pols dels solvats d'ACN de la base lliure del sildenafil: *form I* (simulada a partir del cif) i *form II*. (Ampliació des de 3º fins a 30º (2Θ))

Definir el nou polimorf metastable com a un desolvat isomòrfic del solvat d'ACN (ACN_I) va ser possible a partir de la resolució de la seva estructura cristal·lina a partir de les dades de XRPD per mètodes d'espai directe. La semblança dels difractogrames de pols (entre *form II* i el simulat a partir del cif del solvat d'ACN_I) i la semblança entre els paràmetres de cel·la suggeria que ambdós compostos podien de presentar una estructura cristal·lina similar, (Fig. 4.4).

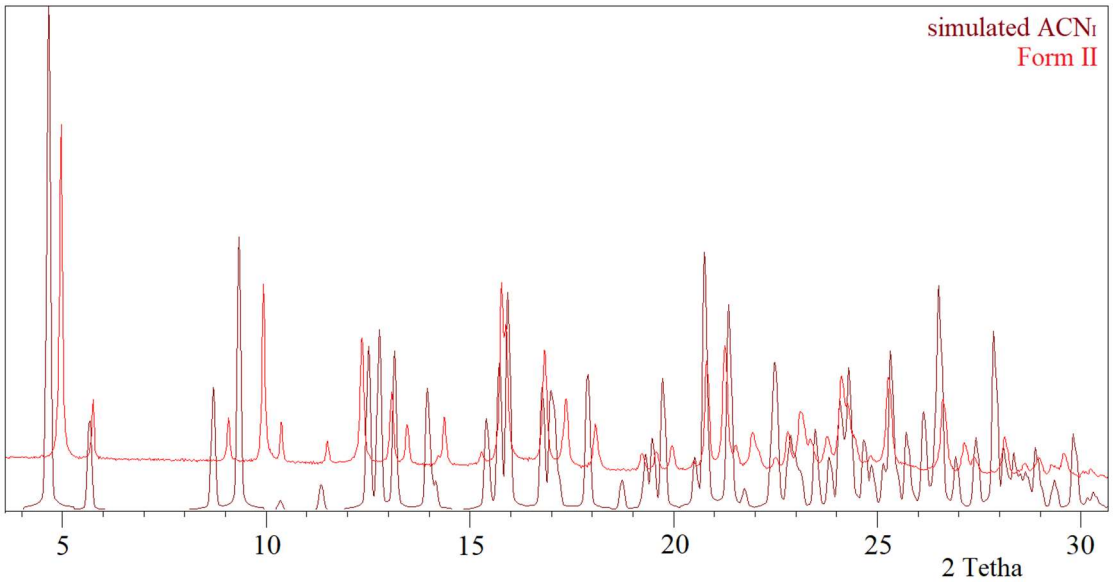


Fig. 4.4. Comparativa dels difractogrames de pols del solvat d'ACN_I (simulada a partir del cif) i la *form II* de la base lliure del sildenafil. (Ampliació des de 3º fins a 30º (2Θ))

En base a aquesta premissa, s'ha determinat l'estructura cristal·lina de la nova forma metastable a partir del seu difractograma de pols, (Fig. 4.5). La metodologia concreta emprada per determinar una estructura cristal·lina a partir de mètodes d'espai directe va ser desenvolupada per la Unitat de Polimorfisme i Calorimetria en col·laboració amb la Unitat de Difracció de Raigs X dels Centres Científics i Tecnològics i presentada en la tesi "*Crystal Engineering Studies of Squaric Acid Derivates*" defensada per la Dra. Anna Portell Bueso. La metodologia descriu com procedir, de manera seqüencial, segons s'indica a continuació:

- En primer lloc es mesura la mostra en aquelles condicions que fan que s'obtingui el millor difractograma de pols possible. En aquest sentit, les condicions han d'afavorir una bona resolució de pics i, amb prou temps de mesura, permetre identificar aquelles senyals (hkl) que són molt poc intenses i que són clau per determinar la cel·la i el grup espaial. Les condicions experimentals de la mesura depenen de la quantitat de mostra disponible i del grau de cristal·linitat que presenti la pols, fet que pot condicionar la determinació de la seva estructura cristal·lina. Un exemple de mesura estàndard és, per a una radiació Cu Kα (λ = 1.5418 Å) el descrit a continuació: mesura en geometria de transmissió en mostra en capil·lar amb un interval de mesura de 1-80º (2Θ), una mida de pas de 0.013º (2Θ) i amb un temps de mesura de 12 a 36 hores.
- Determinar els paràmetres de cel·la (a, b, c, α, β, γ i volum de la cel·la) i el grup espaial, a partir de la indexació del difractograma de pols mesurat fent servir el programa DICVOL04. [192]
- Confirmació dels paràmetres de cel·la a partir de l'ajust de perfil (procediment de *pattern matching*) desenvolupat per Le Bail. [193]
- Resolució de l'estructura cristal·lina a partir de mètodes d'espai directe per mitjà del programa FOX. [194]
- En darrer lloc, es realitza el refinament de l'estructura per mitjà del mètode Rietveld [195, 196] fent servir el programa FULLPROF. [197]
- Finalment, es publica l'estructura cristal·lina en format cif incloent-hi els factors R_{wp} i χ^2 obtinguts a partir del refinament de Rietveld. Aquest factors són considerats els més rellevants a l'hora d'estimar la precisió d'una estructura cristal·lina a partir de les dades de XRPD.

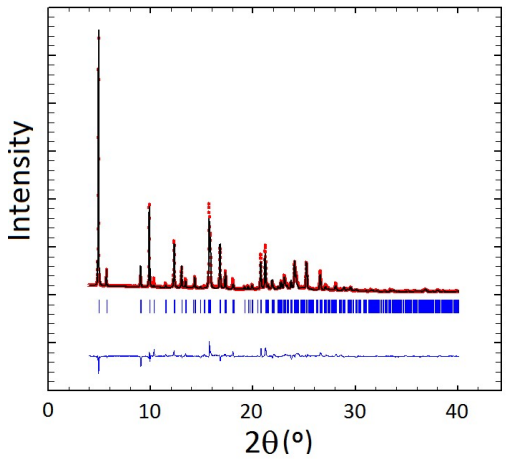


Fig. 4.5. Gràfica final de l'ajust Rietveld obtinguda a partir del refinament de l'estructura cristal·lina de la nova forma metastable. (*Agreement factors*: R_{wp}=12.3%; χ^2= 4.93). Perfil experimental de XRPD (vermell), perfil calculat de XRPD (negre), diferències de perfils (línia blava inferior) i marques blaves verticals indiquen posicions de pics

Comparant les seves estructures cristal·lines es confirma que la nova forma metastable és un desolvat isomòrfic del solvat d'ACN_I. S'observen certes diferències conformacionals degut a que els grups propils de la *form II* han d'omplir l'espai que deixa l'absència de dissolvent, (Fig. 4.6).

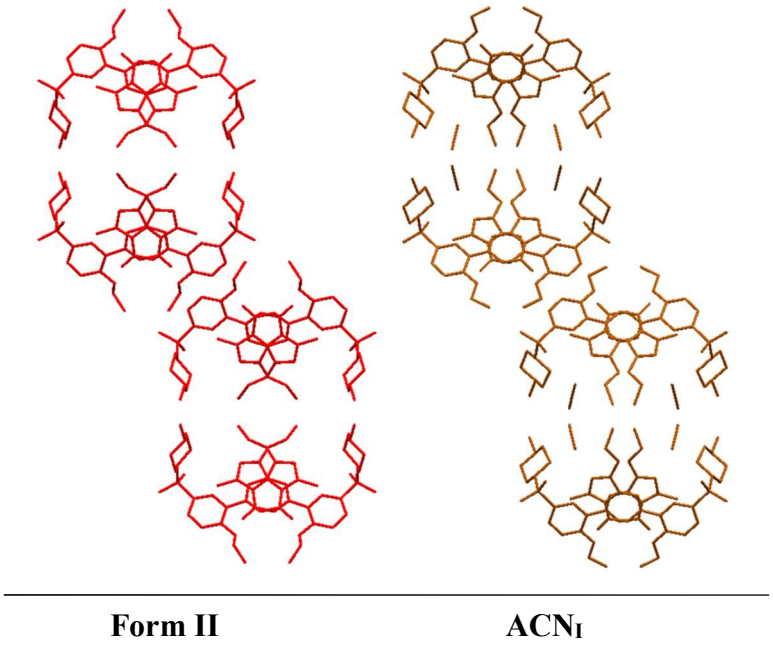


Fig. 4.6. Estructures cristal·lines de la forma anhidre II i la del solvat d'ACN (ACN_I)

L'existència del fenomen de morfotropisme entre la nova forma metastable de la base lliure del sildenafil (*form II*) i la forma termodinàmicament més estable (*form I*) va ser descoberta a partir de l'estudi dels seus empaquetaments. A través del creixement dels paràmetres de cel·la i la simulació de l'empaquetament de cadascuna de les estructures cristal·lines, fent servir el programa Mercury 4.1, s'observa que una de cada tres capes de molècules es relacionen a través d'un centre d'inversió no cristal·logràfic. A les altres dues capes les molècules es relacionen simplement a través d'ajustos conformacionals. Fer créixer l'estructura cristal·lina al llarg de cadascun dels seus tres eixos (a, b, c) permet crear una visió més global del seu empaquetament que complementa les interaccions intermoleculars observades a través de la unitat asimètrica i la cel·la.

La confirmació que la *form II* és metastable respecte a la *form I* es va evidenciar a partir de la realització de suspensions equimolars en diferents dissolvents a temperatura ambient durant 24 hores. Aquesta relació d'estabilitat també va ser confirmada en analitzar per XRPD la pols de la forma metastable després de 20 mesos i observar la presència minoritària de la *form I* en el seu difractograma.

Finalment, es va estudiar l'estructura cristal·lina del solvat de propanonitril de la base lliure del sildenafil que, a pesar de tenir un carboni més que l'ACN, el seu empaquetament recorda al de la *form I* de la base lliure del sildenafil, fet que provoca que a partir de la seva desolvatació es formi la forma anhidre estable.

4.2.2 Article 2: *Hydrogen bonding versus π-interactions: their key competition in sildenafil solvates*

La influència del dissolvent a l'hora d'obtenir una determinada forma cristal·lina ve determinada per les interaccions solut-dissolvent que es produeixen. Estudiar i entendre les interaccions (tipus enllaç d'hidrogen, enllaç d'halogen o aromàtiques) que influeixen en la formació d'un solvat, polimorf o cocristall és crucial per escollir o evitar un/s dissolvent/s tant en l'etapa de síntesi com en la recerca de noves formes sòlides.

L'elevat nombre de dissolvents emprats en l'estudi de polimorfisme de la base lliure del sildenafil es troba relacionat amb l'evidència que la forma metastable només s'obté en presència d'ACN. Aquest fet i la determinació de cercar altres formes anhidres del compost, va fer que s'ampliés el nombre de dissolvents fins a un total de 54. Al llarg de l'*screening*, en la majoria de dissolvents, els sòlids obtinguts són la forma estable (*form I*) tret d'aquells dissolvents on es formen els seus respectius solvats (ACN, propanonitril, toluè, anisol, dioxà, cloroform). A través de la desolvatació de la pols de tots els solvats per mitjà d'experiments de TGA, sempre s'obté la forma més estable, excepte en ACN.

Durant l'*screening* els primers solvats descoberts van ser els de toluè i de cloroform a partir de l'estudi de solubilitat, mentre que els solvats d'ACN (*form I* i *form II*) a partir d'experiments de cristal·litzacions termodinàmiques i de la preparació de suspensions en ACN. En quant al solvat de dioxà només es van veure indicis, tant durant l'estudi de solubilitat com en posteriors experiments en suspensions de dioxà i finalment els solvats de propanonitril i d'anisol es van obtenir a partir de cristal·litzacions termodinàmiques i de la preparació de suspensions sense arribar a assecar el sòlid totalment (són solvats làbils ja que l'assecat total del sòlid provoca la formació de la forma estable). Es van dissenyar una sèrie d'experiments amb la finalitat d'obtenir cristalls per ser analitzats per SCXRD i es van determinar les estructures cristal·lines dels solvats esmentats. En paral·lel, es van preparar una sèrie de suspensions en diferents proporcions equimolars de dissolvents en els quals es formen els solvats de toluè, dioxà, cloroform i ACN per tal d'entendre quina és la influència de la barreja de dissolvents que formen els solvats sobre la forma estable i veure com es pot aplicar el resultat en l'*screening* de polimorfisme i de cocristalls de la base lliure del sildenafil, (Taula 4.2).

Taula 4.2. Barreja equimolar de dissolvents: toluè, dioxà, cloroform, ACN

Barreja	Dissolvents	Resultats XRPD
S 1	Toluè, dioxà, cloroform, ACN	Solvat toluè
S 2	Toluè, dioxà, ACN	Solvat toluè
S 3	Toluè, dioxà, cloroform	Solvat toluè
S 4	Dioxà, cloroform, ACN	Anhidre *form* I
S 5	Toluè, ACN	Solvat toluè
S 6	Dioxà, ACN	Solvat dioxà
S 7	Cloroform, ACN	Solvat cloroform
S 8	Toluè, dioxà	Solvat toluè
S 9	Toluè, cloroform	Solvat cloroform
S 10	Cloroform, dioxà	Solvat cloroform

Aquests experiments han permès obtenir de forma pura el solvat de dioxà i la resolució de la seva estructura cristal·lina a partir de la recristal·lització del compost en la barreja S6. El fet de no observar la presència dels solvats d'ACN (o de la forma anhidre *form II*) ens va permetre deduir que aquest solvat era menys estable que els altres solvats, fet que es va corroborar en determinar que és un solvat làbil i que la *form II* és un desolvat

isomòrfic del solvat d'ACN_I. Finalment, es constata que el solvat de toluè és el solvat termodinàmicament més favorable en aquestes condicions experimentals.

Estudiar les interaccions intra i intermoleculars de les estructures cristal·lines dels solvats de toluè, anisol, dioxà i cloroform ens ha permès entendre el comportament observat experimentalment, és a dir, que la formació del solvat de toluè és més favorable en una barreja de dissolvents. Les 25 estructures cristal·lines dipositades en la CSD (anhidre, sals i cocristalls) del sildenafil exhibeixen un enllaç d'hidrogen intramolecular entre l'anell de pirimidina i l'oxigen del grup etoxi. A part, 24 d'elles presenten una disposició coplanar entre el fenil i l'anell pirazol[3,4-*d*]pirimidina, (Fig. 4.7).

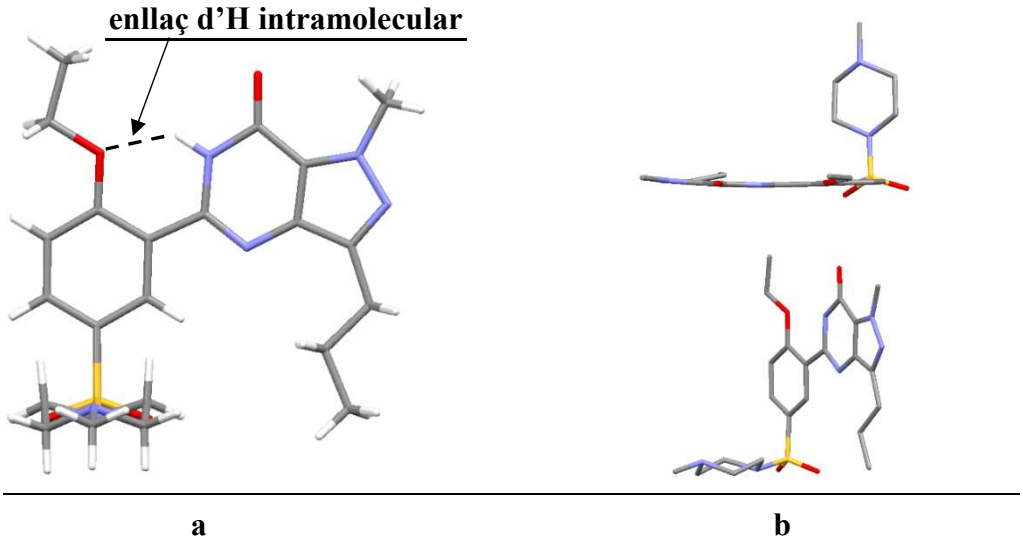


Fig. 4.7. Estructura cristal·lina de la forma anhidre I de la base lliure del sildenafil. (a) Representació de l'enllaç d'hidrogen intramolecular. (b) Dues orientacions que mostren l'existència de coplanaritat entre els dos anells

Els solvats de toluè, d'anisol i de dioxà són solvats isostructurals i mostren el trencament de l'enllaç d'hidrogen intramolecular degut a que les interaccions intermoleculars aromàtiques (π···π i lp···π) són més favorables energèticament, (Fig. 4.8).

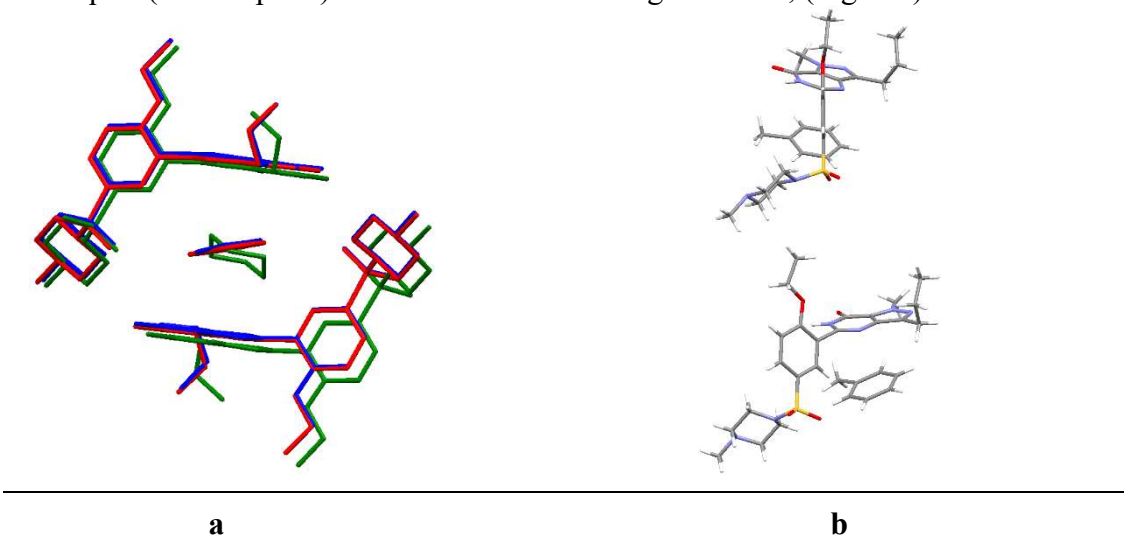


Fig. 4.8. (a) Comparativa entre els tres solvats isostructurals: toluè (**blau**), anisol (**vermell**) i dioxà (**verd**). (b) Dues orientacions que mostren el trencament de la coplanaritat dels dos anells

La presència de cloroform en l'estructura no trenca l'enllaç intramolecular si no que altera les capes de l'empaquetament de les molècules de sildenafil respecte a les capes de la forma anhidre estable (*form I*).

Els càlculs computacionals a nivell DFT mostren que aquestes interaccions aromàtiques són favorables degut a que el trencament de l'enllaç intramolecular permet que l'anell pirazol[3,4-*d*]pirimidina pugui establir unes millors interaccions π···π *stacking*. Aquesta millora s'ha comprovat a través de l'anàlisi de NCI que indica a més que les interaccions de van der Waals a l'entorn de les interaccions aromàtiques ajuden a estabilitzar el complex, especialment quan la molècula és toluè. A juny de 2019, només el 8% de les estructures dipositades en la CSD de la base lliure del sildenafil presenten aquest nou patró, fet que suggereix que molècules relativament petites amb una disposició planar i amb una certa aromaticitat poden ser emprades per a la recerca de nous cocristalls en base al fenomen que hem descrit a aquest article.

L'estudi de polimorfisme de la molècula de sildenafil ha permés descubrir i estudiar set noves formes i ha provocat la introducció de canvis en la part experimenal del nostre l'*screening* de polimorfisme degut al comportament atípic del compost, comportament que pot ser extrapolat a altres principis actius.

4.2.3 Article 3: *Combined Virtual/Experimental Multicomponent Solid Forms Screening of Sildenafil: New Salts, Cocrystals and Hybrid Salt-Cocrystals*

La necessitat de millorar les propietats fisicoquímiques dels principis actius a través de la recerca de nous cocristalls és una evidència que afecta tant a la farmacocinètica del principi actiu com en les seves implicacions de propietat intel·lectual. La voluntat de buscar nous *blockbusters* és la finalitat principal de les indústries farmacèutiques i aquest fet pot ser a través del disseny i la síntesi de llibreries de compostos amb finalitat terapèutica així com mitjançant la recerca de noves formes sòlides de principis actius ja desenvolupats que millorin les seves propietats. És, en aquest darrer terme, l'objectiu que es va plantejar a l'hora de realitzar un *screenig* de cocristalls de la base lliure de sildenafil.

El principi actiu sildenafil es comercialitza en forma de sal, citrat de sildenafil. [198] La recerca bibliogràfica efectuada mostra l'existència de quaranta-tres formes sòlides que es troben descrites a través de diferents publicacions. L'elevat nombre de formes multicomponents descrites, especialment en forma de sals, fa que trobar nous coformadors que tinguin grups funcionals diversos als ja descrits sigui difícil. En aquest sentit, la selecció dels dotze coformadors emprats s'ha realitzat a partir d'una metodologia virtual d'*screening* de cocristalls que calcula la probabilitat de formar un cocristall a partir d'una base de dades de més de 2000 compostos orgànics. Aquesta metodologia descriu el rang potencial de cocristal·lització dels coformadors en base a la diferència d'energia entre el cocristall i els components purs tenint en compte els punts d'interacció intermolecular (Surface Site Interaction Points), (Fig. 4.9). En base a aquesta metodologia computacional es van seleccionar els següents dotze coformadors: quercetina, resveratrol, floroglucinol, àcid 3,4-dihidroxibenzoic, resorcinol, àcid tartàric, àcid cafeic, mio-inositol, *t*-butilhidroquinona, metil galat, àcid 3-hidroxibenzoic i àcid 4-hidroxibenzoic degut a la elevada probabilitat de formar un nou cocristall amb la base lliure del sildenafil. Degut a l'elevat nombre de sals de sildenafil descrites en la bibliografia, el principal objectiu era obtenir nous cocristalls del sildenafil. Tot i que els coformadors àcids seleccionats tenen una elevada probabilitat de formar una sal, aquests coformadors no es

van descartar degut a que un 25% de les estructures cristal·lines dipositades en la CDS (2018) que presenten fragments amb anell de piperazina i àcid carboxílic existeixen en forma de cocristalls o d'híbrids sal-cocristall.

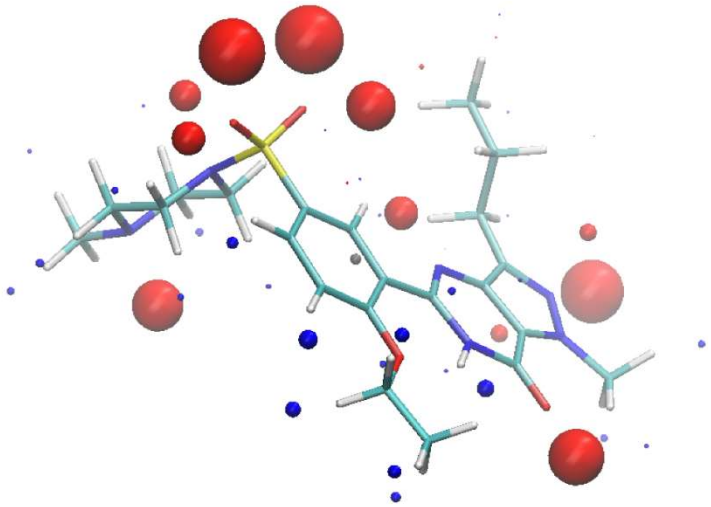


Fig. 4.9. SSIPs calculats per a la base lliure del sildenafil. Les esferes blaves corresponen a punts de la superfície de van der Waals amb tendència a actuar com donadors d'enllaç d'hidrogen i les esferes vermelles a aquells amb tendència a actuar com acceptors d'enllaç d'hidrogen

Una vegada determinada la solubilitat qualitativa dels coformadors en trenta dissolvents s'han dissenyat els següents experiments per tal de realitzar l'*screening* de cocristalls de la base lliure del sildenafil a través dels quals s'han obtingut i analitzat 194 sòlids cristal·lins, (Taula 4.3).

Taula 4.3. Metodologies experimentals emprades durant l'*screening* de cocristalls

Metodologies	Nº experiments	Nº sòlids
Estudi de solubilitat qualitativa	54	54
LAG	48	48
RC	24	24
SMT	24	24
Experiments dissenyats per obtenir monocristalls	44	44

Els indicis observats amb tots els coformadors a partir dels experiments de LAG van ser confirmats posteriorment al llarg dels diferents procediments experimentals. Es van poder aïllar i caracteritzar vint-i-tres noves formes multicomponents del sildenafil: cinc en forma de cocristalls, catorze en forma de sals i quatre en forma d'híbrids sal-cocristall amb vuit dels dotze coformadors estudiats. Les estequiometries, d'aquelles formes sòlides per a les quals no es van poder resoldre les seves estructures cristal·lines, van ser determinades per ^{1}H-RMN, TGA i ratificades a través de la indexació i confirmació dels paràmetres de cel·la a partir de la tècnica de perfil de coincidència (procediment de *pattern matching*) del seu difractograma de pols de difracció de raigs X. Segons l'Equació 4.1, es pot determinar el nombre de molècules (Z) que hi ha dins de la cel·la cristal·lina definida mitjançant els paràmetres ajustats:

$$Z = \frac{d \cdot NA \cdot V}{(10 \cdot PM)} \qquad (4.1)$$

on (d) és la densitat (normalment entre 1.2 - 1.3 (g/cm^3)), (NA) és el número d'Avogadro, (V) és el volum definit a partir dels paràmetres de cel·la ajustats i (PM) és el pes molecular del compost (principi actiu, coformador, dissolvent). El valor de Z ha de ser un valor sencer i coherent amb la multiplicitat (m) del grup espaial deduït a partir de les extincions sistemàtiques dels plans cristal·logràfics (hkl) trobats durant la indexació. A continuació, es determina el nombre de molècules en la unitat asimètrica (Z') segons l'Equació 4.2 i, a partir d'aquest valor, es dedueix l'estequiometria del cristall.

$$Z = m \cdot Z' \qquad (4.2)$$

La dificultat en determinar l'estequiometria a partir del valor de Z rau en introduir la quantitat de dissolvent present en la forma sòlida, fet que ve facilitat per la quantitat de dissolvent determinat per TGA i per ^{1}H-RMN. Finalment, la classificació d'aquestes formes sòlides com a sals o cocristalls es va fer en base a la probabilitat de transferència de protó segons la metodologia descrita a la bibliografia. [88]

La resolució de les estructures cristal·lines de cinc formes sòlides va confirmar la hipòtesi de que l'existència de formes sòlides híbrides amb la base lliure del sildenafil és possible. El disseny d'experiments via *reaction crystallization* implica la preparació d'una dissolució saturada del compost més soluble i, per tant, incrementant la relació molar més enllà del 2:1, 1:1, 1:2. En aquest sentit, l'obtenció d'aquests sòlids amb una estequiometria inesperada és un fet que s'ha de tenir en compte al llarg del disseny dels procediments experimentals de l'*screening* de cocristalls. La cocristal·lització via RC és una metòdica imprescindible dins del disseny experimental que té en compte les diferències de solubilitat entre el principi actiu i el coformador. El punt de partida de l'*screening* de cocristalls és habitualment amb una relació molar 1:1 durant la realització dels experiments LAG i, amb la posterior realització dels experiments de *reaction crystallization*, la possibilitat que el cocristall pugui existir amb una relació molar de 2:1 o 1:2 queda contemplada.

Aquestes cinc noves estructures cristal·lines resoltes, la sal de tartrat isopropanol hemisolvat (SIL-TAR IV), l'híbrid sal-cocristall àcid 3-hidroxibenzoic monohidrat (SIL-3-HBA IV), la sal 3-hidroxibenzoat tetrahidrofurà hemisolvat (SIL-3-HBA II), l'híbrid sal-cocristall àcid 3,4-dihidroxibenzoic monohidrat (SIL-3,4-DHBA IV) i l'híbrid sal-cocristall àcid 3,4-dihidroxibenzoic acetonitril disolvat (SIL-3,4-DHBA II) són cinc exemples més que presenten una conformació similar respecte a la molècula de sildenafil igual a la de les 25 estructures dipositades en la CSD, és a dir, un enllaç d'hidrogen intramolecular i una coplanaritat entre els anells de fenil i l'anell pirazol[3,4-*d*]pirimidina. Aquest fet posa de relleu que encara que alguns dels coformadors emprats siguin petits, plans i aromàtics, el trencament de l'enllaç d'hidrogen intramolecular observat amb el solvat de toluè no es produeix, possiblement degut a la presència d'altres grups funcionals que poden establir altres interaccions. La presència de dissolvents en els canals de totes les estructures és indicatiu de que són necessaris per a l'estabilitat de les respectives formes.

Finalment, s'ha fet un estudi comparatiu de velocitats de dissolució a diferents valors de pH entre diferents formes sòlides obtingudes durant l'*screening* respecte a la base lliure del sildenafil i la sal de citrat comercial. Aquest estudi indica que la sal de tartrat pot ser una alternativa a la sal que es troba en el mercat.

4.3 Publicació generada a partir de l'estudi de l'estat sòlid del principi actiu farmacèutic citrat de fentanil

4.3.1 Article 4: *H-Bonded anion-anion complexes in fentanyl citrate polymorphs and solvates*

Aquest estudi és un exemple d'aplicabilitat d'un *screening* de formes sòlides sobre un problema real dins de la indústria farmacèutica. La presència d'una impuresa que invalidava les especificacions dels lots finals de producte i un potencial problema de naturalesa desconeguda han proporcionat el descobriment de quatre noves formes sòlides del citrat de fentanil.

La presència d'impureses té una influència directe sobre la forma sòlida que s'obté al final del procés de síntesi. Canvis en el material de partida, respecte a la qualitat del dissolvent o al procediment experimental afecten de tal manera que la forma sòlida que s'està desenvolupant desaparegui (fenomen conegut com *dissapearing polymorphs*) o puguin aparèixer noves fases inesperades. La impuresa pot ser tant un producte secundari de síntesi com una forma sòlida nova (polimorf). En aquest sentit, alguns lots industrials del citrat de fentanil presentaven una inesperada terbolesa quan es preparaven les formulacions injectables del producte, fet que provocava que fossin lots que es troben fora d'especificacions. Els diagrames de difracció de raigs X de pols de dos lots mostren traces d'una fase cristal·lina que suggeria la presència d'una forma insoluble, (Fig. 4.10) Amb l'objectiu d'identificar i caracteritzar aquesta fase es va dissenyar un *screening* de polimorfisme.

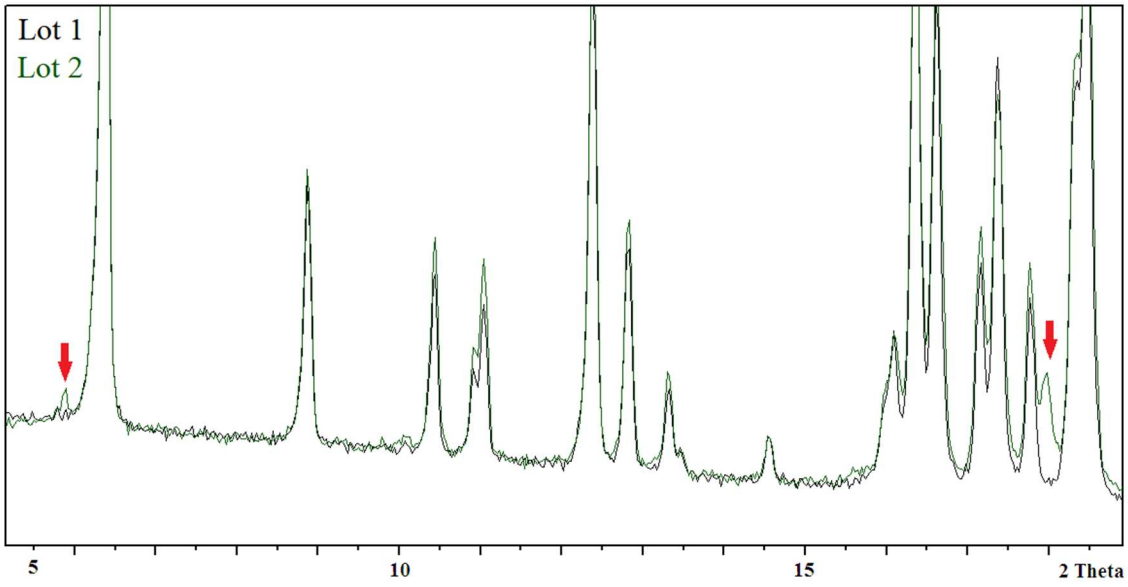


Fig. 4.10. Comparativa dels difractogrames de pols de raigs X de dos lots diferents de producte final del citrat de fentanil. El lot 2 mostra la presència d'una fase minoritària a 5.9º i 18.0º (2Θ). (Ampliació des de 4.5º fins a 20º (2Θ))

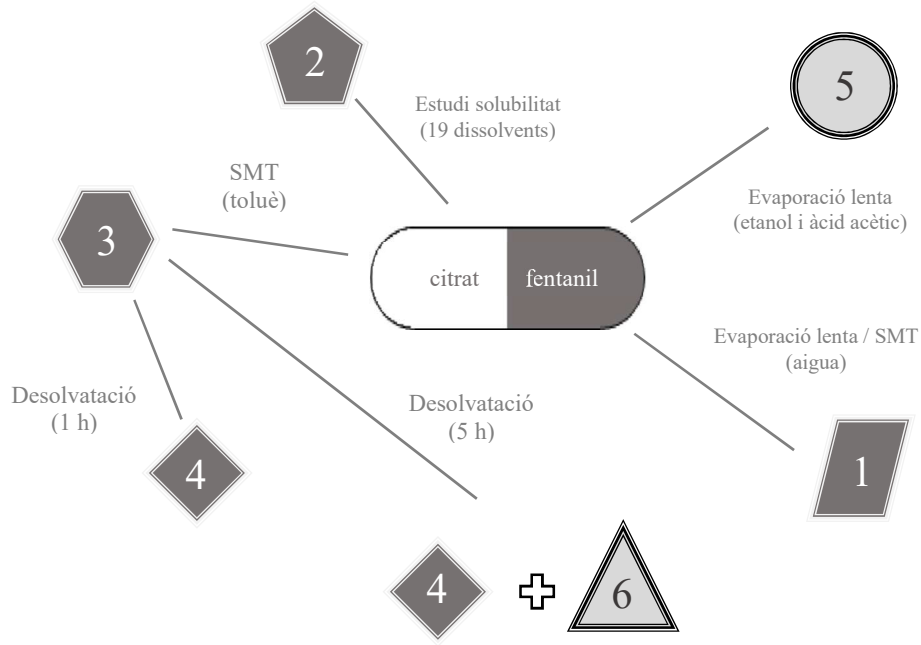
Els precedents bibliogràfics del principi actiu mostraven l'existència de dues formes sòlides, una en forma anhidre (forma I, (2)) i una en forma de solvat de toluè (3) descrites a finals dels anys 70 a dues publicacions (Esquema 4.1).[199, 200] El producte de partida del nostres estudi és la forma anhidre (2) sobre el qual es va determinar la seva solubilitat

qualitativa. A continuació es va dissenyar els següents experiments per tal de realitzar l'*screening* de polimorfisme del citrat de fentanil a través dels quals s'han obtingut i analitzat 53 sòlids cristal·lins, (Taula 4.4).

Taula 4.4. Metodologies experimentals emprades durant l'*screening* de polimorfisme

Metodologies	Nº experiments	Nº sòlids
Evaporacions lentes (estudi de solubilitat)	19	15
SMT (estudi de solubilitat)	11	11
SMT a temperatura ambient	16	21
Experiments dissenyats per obtenir monocristalls	7	6

Com a resultat de l'*screening* portat a terme tres noves formes sòlides van ser identificades i caracteritzades, a part de les ja descrites en la bibliografia, (Esquema 4.1). S'identifiquen dues formes més, un dihidrat (5) i una anhidre (6), essent aquesta última una forma concomitant d'un altra forma anhidre (4). La forma sòlida majoritària obtinguda a través de l'estudi de solubilitat és la forma anhidre (2) i la seva estructura s'ha resolt per SCXRD. També s'ha identificat i caracteritzat l'hidrat 1.125 (1) i s'ha identificat el dihidrat (5). A partir dels experiments de SMT, en particular aquells que empren toluè com a dissolvent i a diferents temps de secat, s'ha aïllat a forma anhidre (4) i s'ha identificat la forma anhidre (6) la qual cristal·litza de manera concomitant amb la forma anhidre (4). Finalment, a partir dels experiments dissenyats per obtenir monocristalls s'ha determinat l'estructura cristal·lina de l'hidrat 1.125 (1) i del solvat de toluè (3), aquest últim a partir d'una cristal·lització en una barreja de dissolvents toluè-metanol, (Fig. 4.11). El dihidrat (5) i la forma anhidre (6) no s'han pogut aïllar com a formes cristal·logràficament pures i no s'han pogut caracteritzar completament.



Esquema 4.1. Descripció del panorama polimòrfic del citrat de fentanil descobert a partir de l'*screening* de formes sòlides

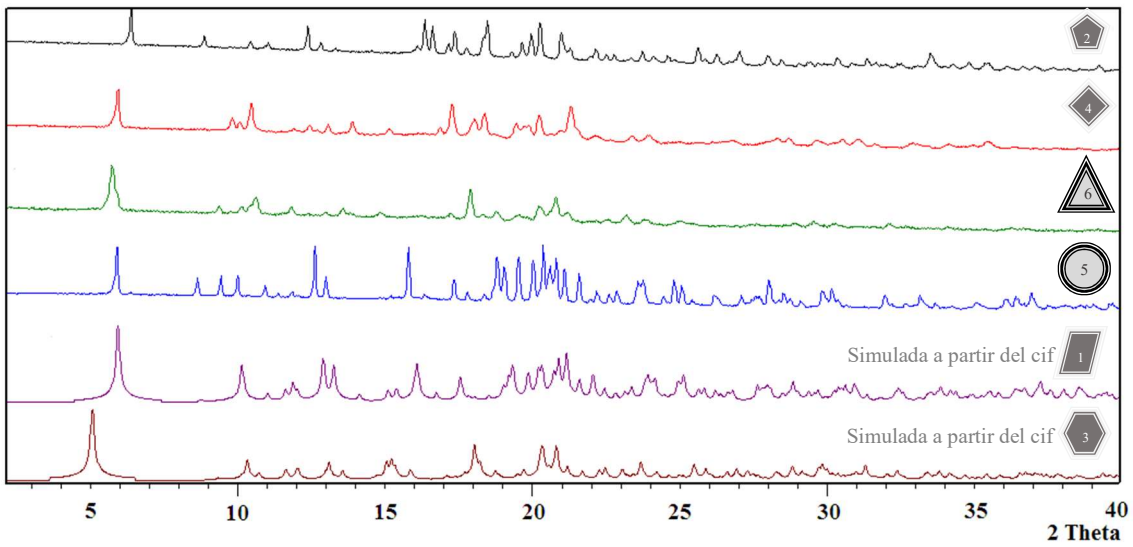


Fig. 4.11. Comparativa dels difractogrames de pols de raigs X de totes les formes sòlides descobertes del citrat de fentanil. Els difractogrames de pols de les formes 1 i 3 s'han simulat a partir dels seus respectius cifs

De la mateixa manera que succeïa amb la molècula de sildenafil, la desolvatació del solvat de toluè del citrat de fentanil genera la forma anhidre (4) i en funció de la durada de la desolvatació l'aparició de la forma anhidre (6) de manera concomitant, suggerint una transformació sòlid-sòlid. El difractograma de pols del solvat de toluè s'ha determinat parcialment realitzant una anàlisi del sòlid humit que prové d'una suspensió en toluè, però sempre amb presència minoritària de les formes anhidres (4 i 6). Així doncs, només com a monocristall s'ha obtingut pur.

Una anàlisi comparativa dels difractogrames de raigs X de pols de les noves formes sòlides respecte als lots inicialment mesurats, permet concloure que, tot i tenir certes coincidències a nivell de pics de 2Θ, no tot el patró de XRPD es troba ben definit. Així doncs, es descarta que aquesta impuresa sigui de naturalesa polimòrfica, (Fig. 4.12 i Fig. 4.13).

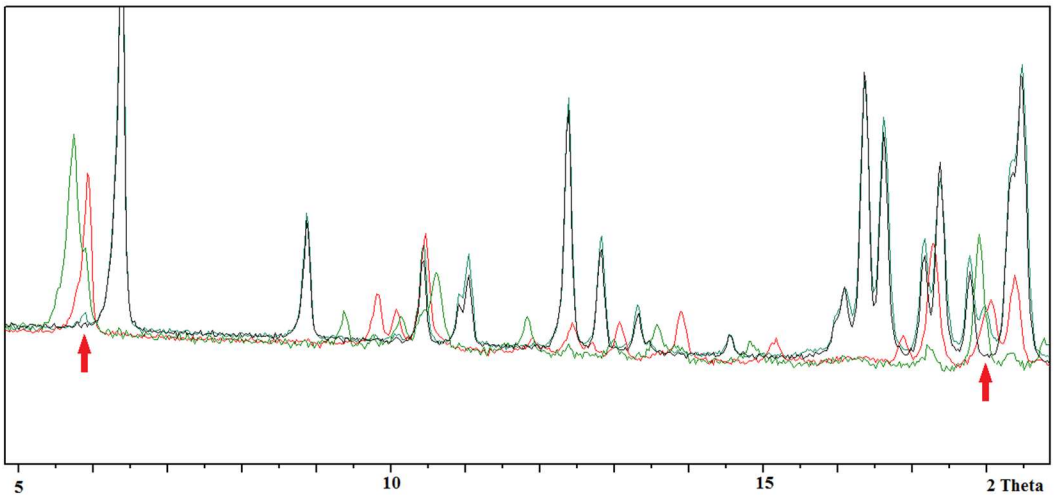


Fig. 4.12. Comparativa dels difractogrames de pols de raigs X dels lots 1 (negre) i 2 (cian) final de producte del citrat de fentanil amb els de les formes 4 (vermell) i 6 (verd)

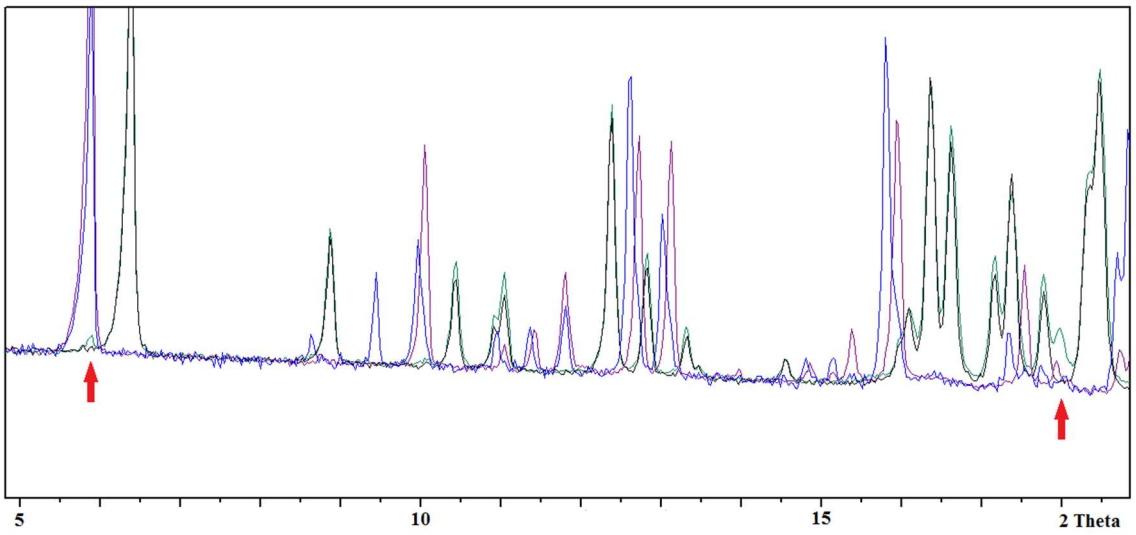


Fig. 4.13. Comparativa dels difractogrames de pols de raigs X dels lots 1 (negre) i 2 (cian) final de producte del citrat de fentanil amb els de les formes 1 (lila) i 5 (blau)

Descartada la hipòtesi de la impuresa polimòrfica, es va analitzar per difracció de raigs X de pols el sòlid filtrat provinent de la suspensió que presentava terbolesa. La comparativa del seu difractograma amb una base de dades de materials va confirmar la presència de Cr_2O_3 provinent de petites partícules despreses del reactor de crom utilitzat en el procés industrial, (Fig. 4.14 i Fig. 4.15).

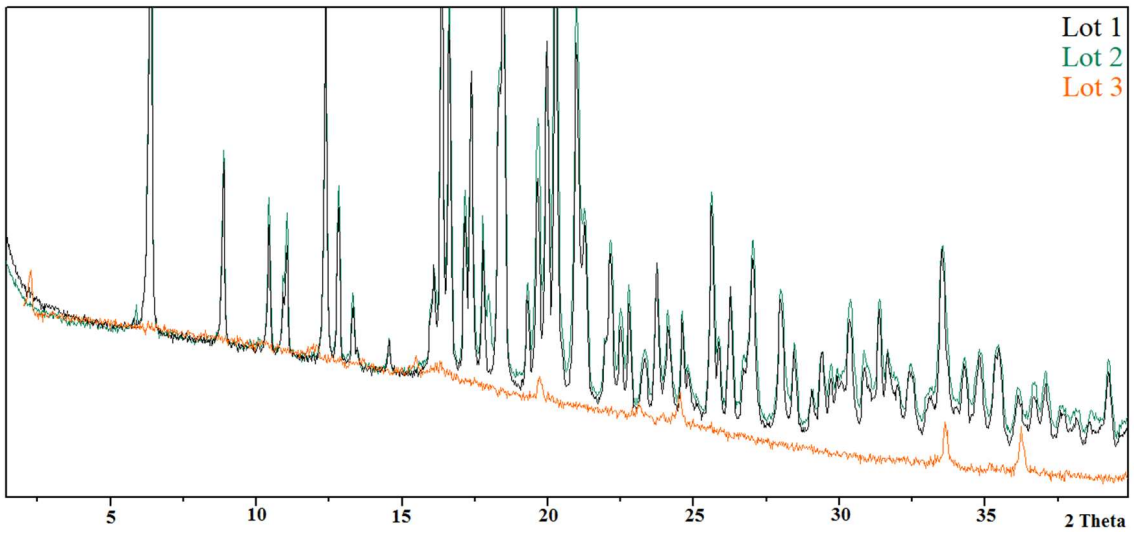


Fig. 4.14. Comparativa dels difractogrames de pols de raigs X dels lots 1 (negre) i 2 (cian) final de producte del citrat de fentanil amb el del sòlid filtrat provinent de la terbolesa observada 3 (taronja)

En aquest estudi no hem pogut identificar la forma cristal·lina minoritària observada en el lot 2, que justament coincideix amb el lot que presentava una terbolesa a l'hora de preparar la formulació injectable del compost. El fet de descobrir que l'origen del problema es troba en el material que recobreix el reactor industrial, de descartar l'interès en quant a propietat intel·lectual de les quatre formes noves descobertes i la manca de suficient material de partida, es va decidir no continuar estudiant el compost amb l'objectiu d'identificar la fase. Amb tot, s'ha fet una mesura de difracció de raigs X de la pols del lot 2 i aquesta fase ha desaparegut al llarg del temps.

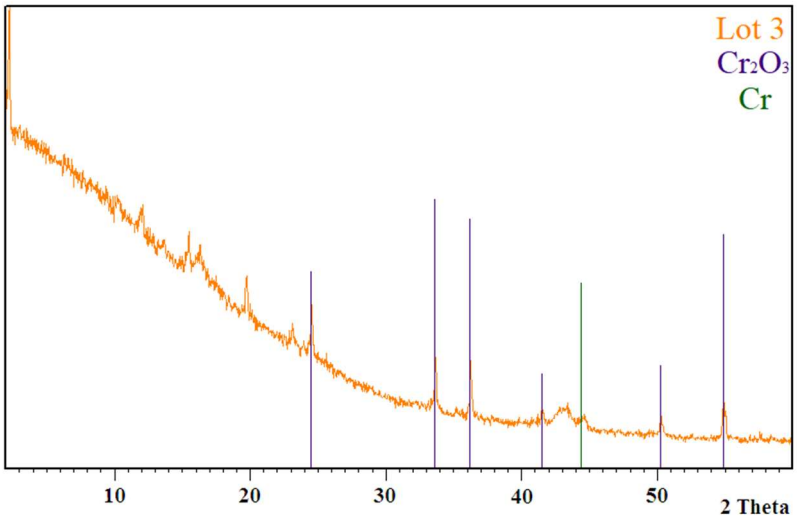


Fig. 4.15. Comparativa dels difractogrames de pols de raigs X del sòlid filtrat provinent de la terbolesa observada (taronja) amb la base de dades de materials [201]

El subministrament de principis actius en forma de sal d'àcids carboxílics és bastant comú. Estudiar el tipus d'interaccions intermoleculars i en particular les del tipus anió-anió té un especial interès degut a la seva influència sobre les propietats fisicoquímiques dels APIs. Les estructures cristal·lines de la forma anhidre I (forma 2) i del solvat de toluè (referència CSD: PEPCIT10) (forma 3) van ser determinades a finals dels anys 70. La primera, però, va ser publicada a la CSD sense coordenades atòmiques i la segona l'hem resolta a baixa temperatura i amb un millor factor de resolució. Les tres estructures cristal·lines presenten dos tipus d'interaccions d'enllaç d'hidrogen que estabilitzen el complex anió-anió, una a través d'un parell d'enllaços d'hidrogen carboxílic (forma 1) i una segona a través de quatre enllaços d'hidrogen que s'estableixen entre dos grups hidroxil, dos carboxilats i dos àcids carboxílics (formes 2 i 3).

Entendre el comportament experimental dels sòlids obtinguts al llarg de l'*screening* no sempre és possible. L'estudi de l'estructura cristal·lina del solvat de toluè indica que la seva desolvatació dóna lloc a la forma anhidre II (forma 4) i el que fa que la seva estructura no col·lapsi és deguda a principalment tres factors: en primer lloc a la disposició lineal en forma de zig-zag de la molècula de l'anió citrat (Fig. 4.16). Són les interaccions intermoleculars més fortes que condicionen l'empaquetament generant canals al llarg de l'estructura.

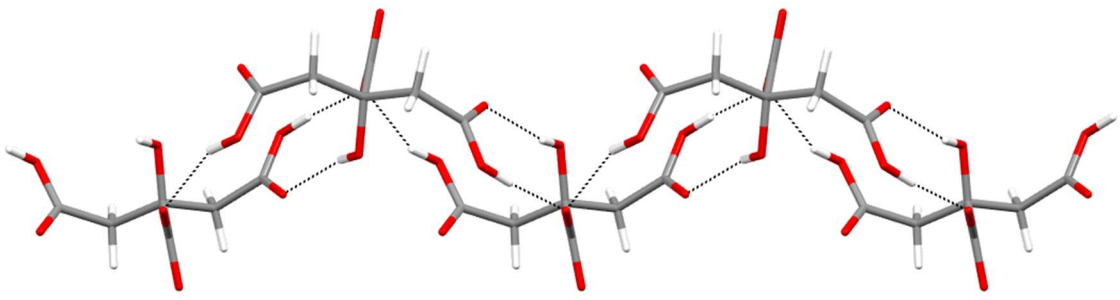


Fig. 4.16. Representació del creixement d'un canal de citrat en forma de zig-zag de l'estructura cristal·lina del solvat de toluè i dels enllaços d'hidrogen que s'estableixen. Visió segons el paràmetre de cel·la a

En segon lloc, aquest creixement en forma de canals realitzat per les molècules de citrat implica que les molècules de fentanil generin altres canals que són ocupats per molècules de toluè que es disposen de manera alternada, (Fig. 4.17 i Fig. 4.18).

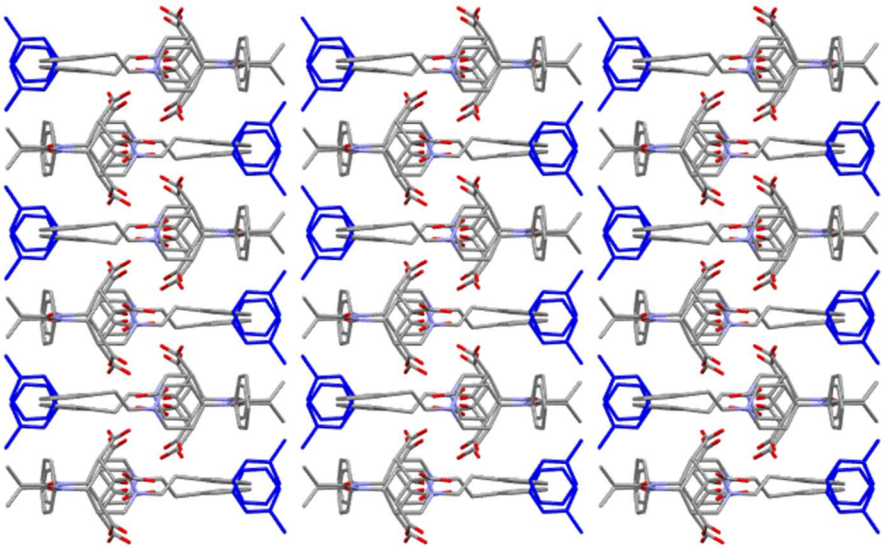


Fig. 4.17. Representació de la disposició de les molècules de toluè (blau) al llarg de l'estructura. Visió segons el paràmetre de cel·la c

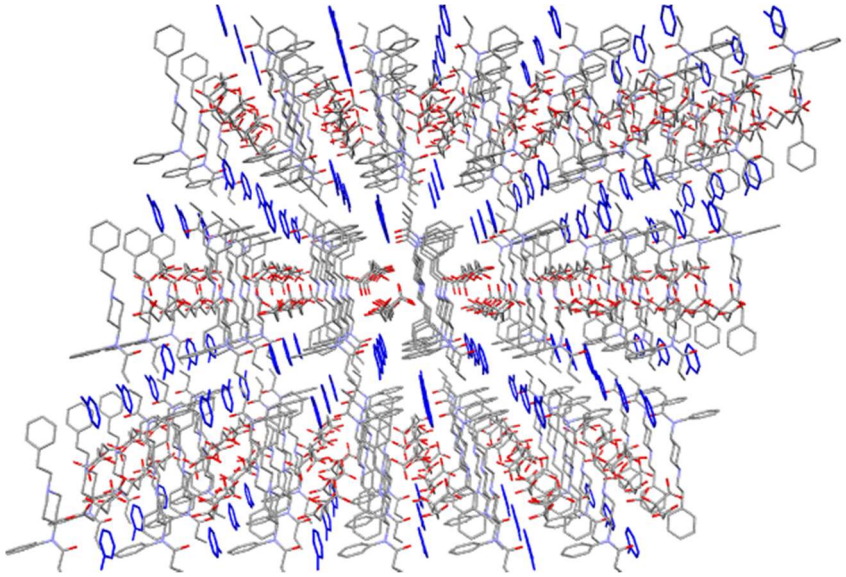


Fig. 4.18. Representació dels canals de les molècules de citrat i de toluè (blau) en l'estructura. Visió segons el paràmetre de cel·la b

Finalment, la presència únicament d'interaccions dèbils de tipus CH···π entre la molècula de toluè i els grups fenils de la molècula de fentanil expliquen per què la desolvatació del sòlid és ràpida quan es realitza un secat al buit a temperatura ambient.

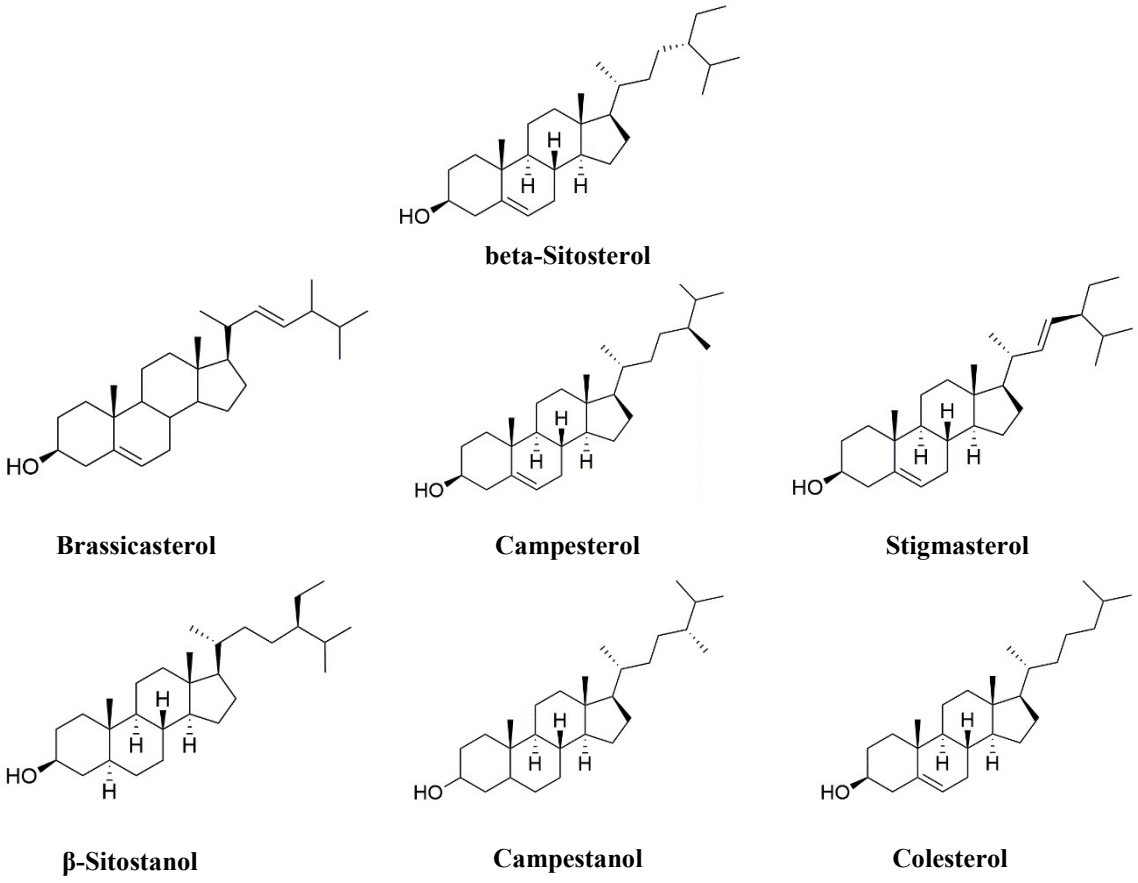
En definitiva, en l'intent de caracteritzar una impuresa química s'han descobert quatre noves formes del citrat de fentanil quatre dècades després de la seva síntesi. Per tant, aquest estudi és un bon exemple de la dificultat de tenir completament descrit el panorama polimòrfic d'un compost.

4.4 Patent generada a partir de l'estudi de l'estat sòlid del principi actiu nutracèutic beta-sitosterol

4.4.1 Patent WO2018/234540A1: *Crystalline forms of Beta-Sitosterol*

Aquest tercer estudi és un exemple d'aplicabilitat d'un *screening* de cocristalls sobre un material de partida que és una dissolució sòlida de tres compostos, sent el majoritari el beta-sitosterol. Aquest fet no condiciona *a priori* l'*screening*, tot i que, ens serveix d'exemple per veure com es comporta la dissolució sòlida en dissolució. En tractar-se d'una molècula amb un únic grup funcional polar, el rol de les interaccions de tipus van der Waals pot ser més significatiu en relació a l'empaquetament de la molècula, sent la interacció més forta la que es deriva de l'alcohol degut a la seva tendència a actuar com acceptor i com donador d'enllaç d'hidrogen.

Els principis actius nutracèutics són tots aquells productes naturals que tenen un efecte beneficiós per a la salut humana. En concret, el beta-sitosterol és el fitosterol més abundant, present en nombrosos aliments i, en no ser sintetitzat pel cos humà, només es pot adquirir a través de la dieta. El beta-sitosterol presenta una estructura similar a la d'altres fitosterols (Esquema 4.2), fet que fa que competeixi amb el LDL-colesterol, reduint el seu nivell en sèrum i així evitant problemes cardiovasculars (arteriosclerosis i aterosclerosi) associats a l'elevat nivell de colesterol en plasma. Aquesta és la indicació per la qual la FDA va aprovar el seu ús com a principi actiu nutracèutic.



Esquema 4.2. Representació de les estructures moleculars dels fitosterols més rellevants

Els precedents bibliogràfics d'aquest principi actiu nutracèutic van mostrar l'existència de vint publicacions relacionades amb el seu estat sòlid: quatre en forma de patents i setze en forma d'articles. L'estat sòlid del compost inclou vint formes cristal·lines: una en forma d'anhidre, dues en forma d'hidrats, set en forma de solvats i deu en forma de cocristalls. S'han descrit cinc maneres diferents de preparació del beta-sitosterol sense especificar la seva forma sòlida: dues formant part d'un organogel, una formant part d'un liposoma, una adsorbit i formant part d'un polímer i una formant part d'una emulsió. Amb l'objectiu de descobrir noves formes sòlides cristal·lines del beta-sitosterol que millorin la seva velocitat de dissolució, solubilitat i efectes terapèutics, es va decidir realitzar un *screening* de cocristalls.

Abans però d'iniciar pròpiament l'*screening*, s'han de realitzar dues consideracions que s'han de tenir en compte degut a la seva influència en el decurs de l'estudi. En primer lloc, el material disponible no és 100% beta-sitosterol. El disseny i optimització dels processos experimentals desenvolupats per a un *screening* de polimorfisme o de cocristalls requereix d'un mínim de quantitat de material de partida. Independentment de l'*screening*, 5 g és la quantitat mínima necessària per a realitzar la part experimental de l'estudi. Amb tot, la quantitat final necessària depèn de l'estat de desenvolupament de la molècula a estudiar, on la quantitat òptima pot arribar als 10 g. Per al cas de beta-sitosterol, el seu elevat cost (100 mg de beta-sitosterol amb una puresa ≥95% té un cost aproximat de 1000€) fa que el producte de partida disponible fos una dissolució sòlida que presentava una puresa ≥80.5% de beta-sitosterol segons especificacions del proveïdor, Sigma-Aldrich. Determinar amb exactitud el % de beta-sitosterol i dels altres components que formen la dissolució sòlida és clau per a les posteriors implicacions en la propietat intel·lectual de les noves formes sòlides que se'n derivin. Així doncs, es va definir un mètode analític per determinar i quantificar la composició de la dissolució sòlida, amb l'ajuda de la Unitat de Tècniques Separatives i la Unitat de Cromatografia de Gasos i Espectrometria de Masses Aplicada dels Centres Científics i Tecnològics. Aquest estudi va permetre determinar que els altres compostos que formen part de la dissolució sòlida són el campesterol i l'stigmasterol, (Esquema 4.2).

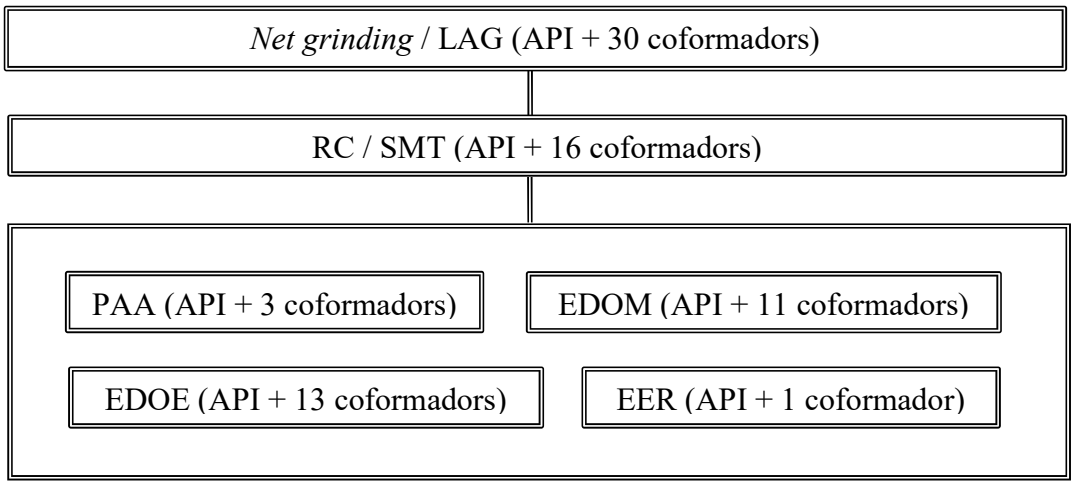
En quant a la selecció dels coformadors emprats per a realitzar l'estudi, aquesta s'ha efectuat en base als coneixements d'enginyeria cristal·lina tenint en compte el grup funcional més polar de l'API i el seu comportament dual d'acceptor/donador d'enllaç d'hidrogen. S'han estudiat les interaccions intermoleculars més favorables dels alcohols realitzant una cerca en la CSD del sintons més favorables tenint en compte que un dels grups funcionals sigui un alcohol. A partir d'aquest estudi, s'han seleccionat trenta coformadors, el llistat complert dels quals no es pot esmentar per qüestions de confidencialitat, i únicament es detallen els coformadors que donen lloc a noves entitats patentables: àcid làctic, àcid propiònic, àcid zimònic, àcid gàl·lic, àcid 2,4-dihidroxibenzoic, àcid 3,4-dihidroxibenzoic, àcid 3,5-dihidroxibenzoic, àcid 3-hidroxibenzoic, àcid 4-hidroxibenzoic i un coformador provinent de l'estudi de solubilitat qualitativa: alcohol benzílic.

Així doncs es va determinar la solubilitat qualitativa de la dissolució sòlida (campesterol, stigmasterol i beta-sitosterol) en trenta dissolvents. L'elevada solubilitat del producte en la gran majoria de dissolvents s'ha de tenir en consideració a l'hora de dissenyar l'*screening* de cocristalls. També s'han determinat les solubilitats qualitatives dels coformadors i, per a aquells coformadors líquids, s'ha determinat si solubilitzen o no el producte de partida en absència de dissolvents. A través del disseny de l'*screening*

experimental i de l'optimització dels processos d'escalat de les noves formes sòlides obtingudes s'han obtingut i analitzat 503 sòlids cristal·lins, (Taula 4.5) (Esquema 4.3).

Taula 4.5. Metodologies experimentals emprades durant l'*screening* de cocristalls

Metodologies	Nº experiments	Nº sòlids
Estudi de solubilitat qualitativa (només API)	30	29
Net grinding	5	5
LAG	115	113
RC	65	64
SMT	44	44
Precipitació per addició d'antisolvent (PAA)	56	54
Experiments dissenyats per obtenir monocristalls (EDOM)	75	50
Experiments dissenyats per optimitzar l'escalat de lots (EDOE)	103	137
Estudi d'estabilitat relativa (EER)	1	7



Esquema 4.3. Representació de l'evolució de l'*screening* de cocristalls per a la dissolució sòlida de beta-sitosterol

Els indicis observats amb els setze coformadors a partir dels experiments de *net grinding*/LAG es van confirmar a través de RC i SMT i els seus processos experimentals es van optimitzant posteriorment a través de l'escalat dels cocristalls descoberts. Finalment, s'han aïllat i caracteritzar tretze noves formes multicomponents del beta-sitosterol: totes elles en forma de cocristall de les quals s'han patentat dotze.

Mitjançant els experiments dissenyats per obtenir monocristalls s'han determinat quatre estructures cristal·lines: dues amb àcid propiònic (una en forma de monohidrat i l'altre en forma de solvat d'ACN), una amb alcohol benzílic monohidratat i una amb àcid zimònic monohidratat. A través de l'estudi d'aquestes estructures s'han observat tres peculiaritats, dues d'elles inesperades, que es poden extrapolar a d'altres estudis de l'estat sòlid de principis actius:

La primera és que, tenint en compte que els tres fitosterols que formen la dissolució sòlida es troben formant part del cristall, a partir d'un determinat àtom de carboni (indicat com R en la Figura 4.19) hi ha un desordre en l'estructura generat per la presència de les tres molècules quasi-isoestructurals que es disposen de manera periòdica al llarg del cristall. Aquest desordre afecta principalment a les cadenes alifàtiques fet que no permet identificar correctament les posicions atòmiques. D'altra banda, les principals interaccions polars del cristall s'han pogut determinar correctament, degut a que el

desordre es troba en la part més llunyana de la molècula respecte a aquestes interaccions, (Fig. 4.20). Així doncs, partint d'una dissolució sòlida la resolució per SCXRD de la seva estructura cristal·lina és aproximada i introdueix desordre ja que no es pot determinar correctament la posició de tots els àtoms. D'altra banda, és possible determinar l'estructura cristal·lina d'una dissolució sòlida a partir de dades de difracció de raigs X de pols per mètodes d'espai directe amb l'aproximació que només la molècula majoritària de la dissolució sòlida és l'única present a l'estructura cristal·lina, tal i com es va fer amb la resolució de la dissolució sòlida del beta-sitosterol anhidre amb referència CSD: LOFFET. [202]

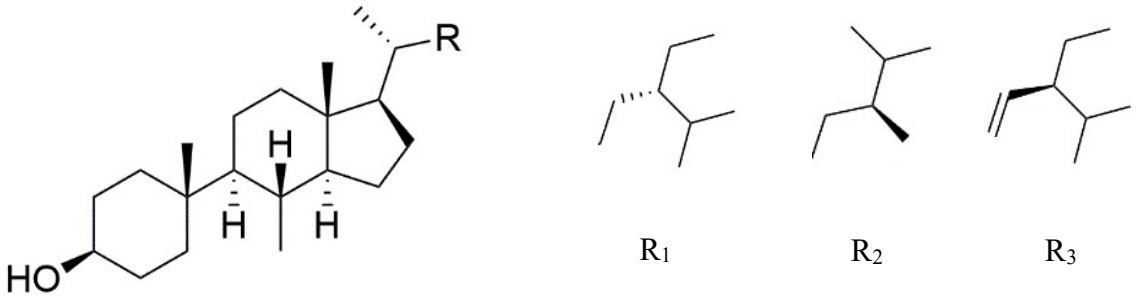


Fig. 4.19. Representació de les diferències entre les estructures moleculars del beta-sitosterol (R_1), campesterol (R_2) i stigmasterol (R_3)

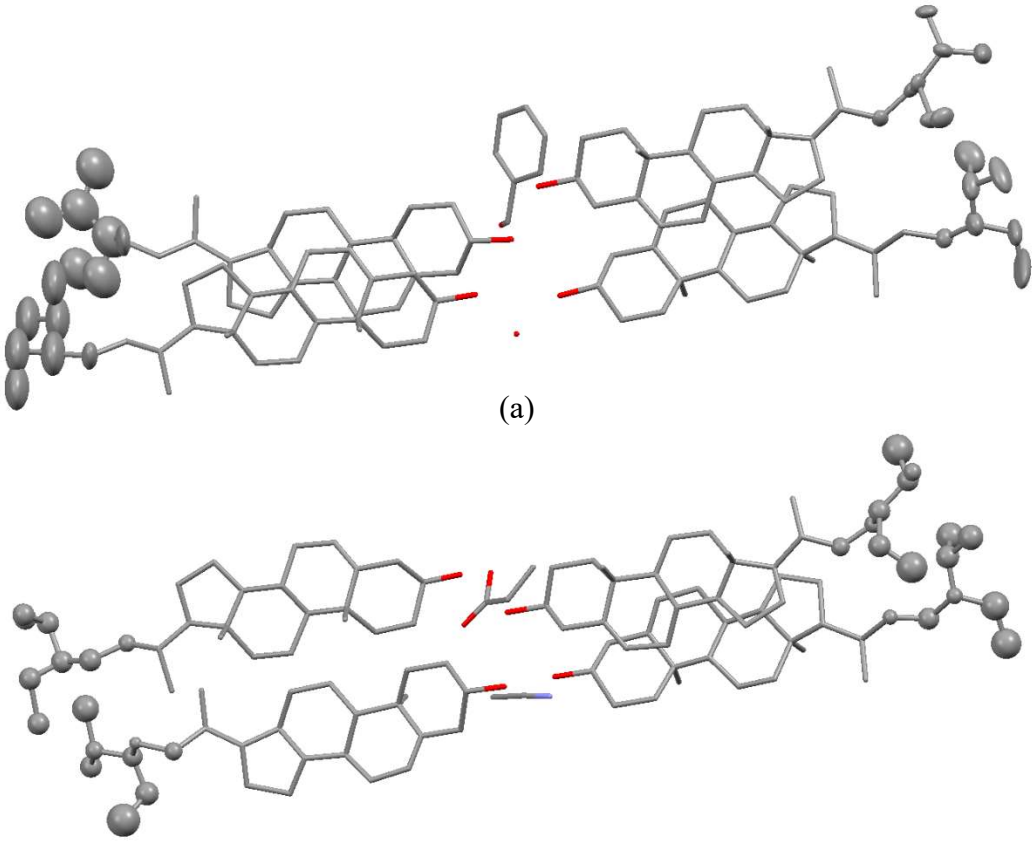
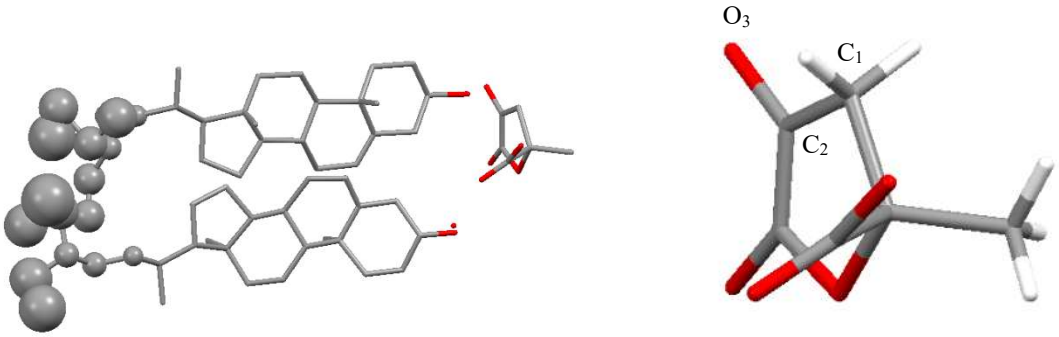


Fig. 4.20. Representació del desordre observat en les estructures del monohidrat del cocristall amb alcohol benzílic.(a) i del solvat d'ACN del cocristall amb àcid propiònic (b). Els hidrògens s'han omès per simplificar la figura

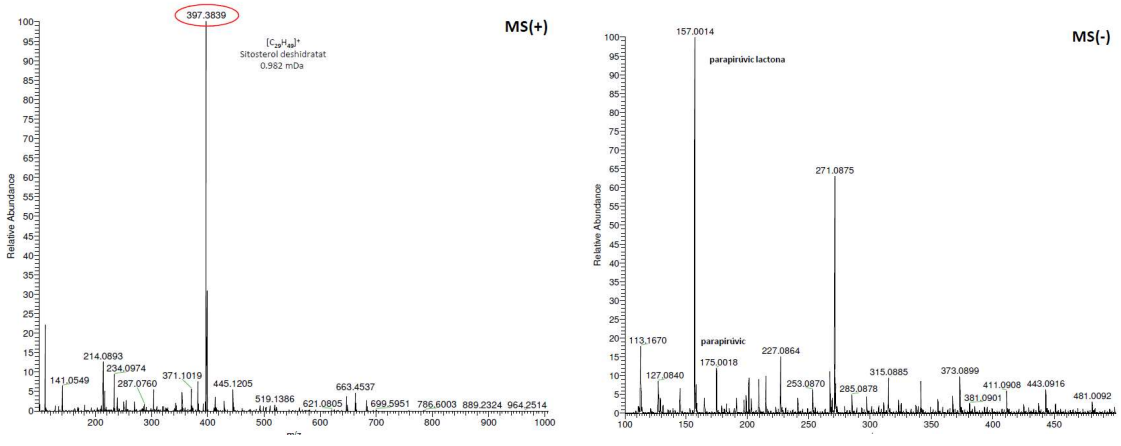
La segona peculiaritat es troba en que el producte de la degradació de l'àcid pirúvic, l'àcid zimònic, és l'únic que interacciona amb la dissolució sòlida de fitosterols donant lloc a la formació del cocristall. La presència d'una molècula d'àcid zimònic formant part de l'estructura cristal·lina és inesperada degut a que aquesta molècula no s'utilitza com a coformador durant l'*screening*, sinó que es genera *in situ* (Fig. 4.21).



(a) (b)

Fig. 4.21. (a) Representació del desordre observat en l'estructura del monohidrat del cocristall amb l'àcid zimònic. Els hidrògens s'han omès per simplificar la figura. (b) Tautòmer enol de l'àcid zimònic dins de l'estructura cristal·lina, els hidrògens no s'han pogut determinar correctament. Les distàncies atòmiques dels enllaços C_2-O_3 (1.37 Å) i C_1-C_2 (1.43 Å) confirmen que l'àcid es troba en forma enòlica

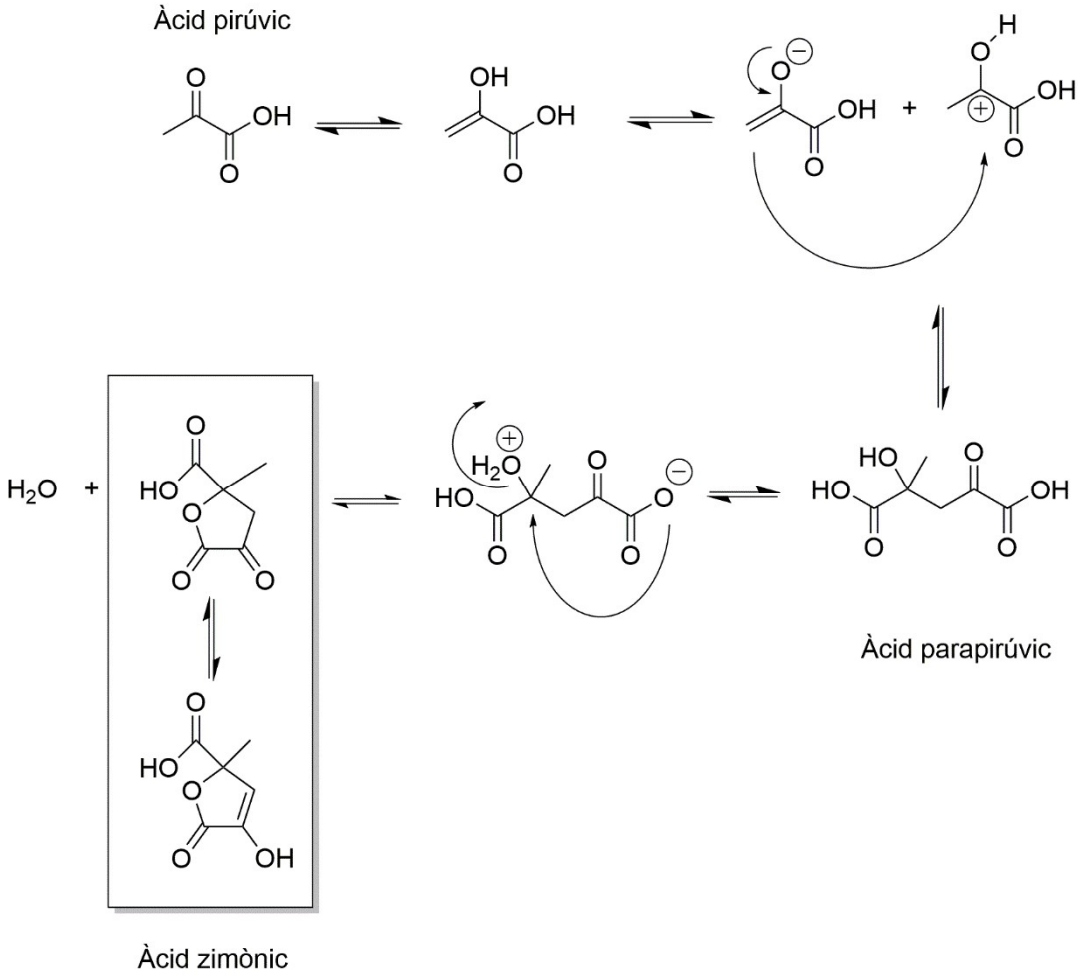
Després de la resolució de l'estructura cristal·lina s'ha analitzat el sòlid d'aquesta nova fase per Espectrometria de Masses i s'ha confirmat tant la presència de beta-sitosterol (PM: 397 g/mol (deshidratat)) com la de l'àcid zimònic (PM: 157 g/mol), (Fig. 4.22).



(a) (b)

Fig. 4.22. Espectres de masses del cocristall de beta-sitosterol amb àcid zimònic: (a) beta-sitosterol; (b) àcid zimònic

L'àcid zimònic s'obté a partir de la transformació de l'àcid pirúvic en l'àcid parapirúvic i posterior ciclació per formar la lactona, la qual es troba en equilibri amb la seva forma tautomèrica, en dissolució (Esquema 4.4).



Esquema 4.4. Mecanisme de la reacció de transformació de l'àcid pirúvic a l'àcid zimònic

L'últim pas era doncs saber d'on prové l'àcid zimònic i s'ha determinat que aquest es troba present de forma minoritària (aproximadament en un 7%, segons ^{1}H-RMN) en el producte de partida, en forma enòlica. [203] Amb un nou lot d'àcid pirúvic contenint menys d'un 2% d'àcid zimònic segons ^{1}H-RMN, s'ha repetit la part experimental de *Net grinding* / LAG i només s'han obtingut traces de formació del cocristall amb àcid zimònic, fet que confirma que l'àcid pirúvic es transforma *in situ* durant els experiments de cristal·lització.

La tercera i última peculiaritat també és inesperada i s'observa a partir de la resolució de l'estructura cristal·lina del cocristall amb àcid propiònic monohidrat. Aquesta estructura presenta un valor de R (R_1 = 0.0446, wR_2 = 0.0582) sense desordre degut a l'absència dels altres fitosterols, (Fig. 4.23).

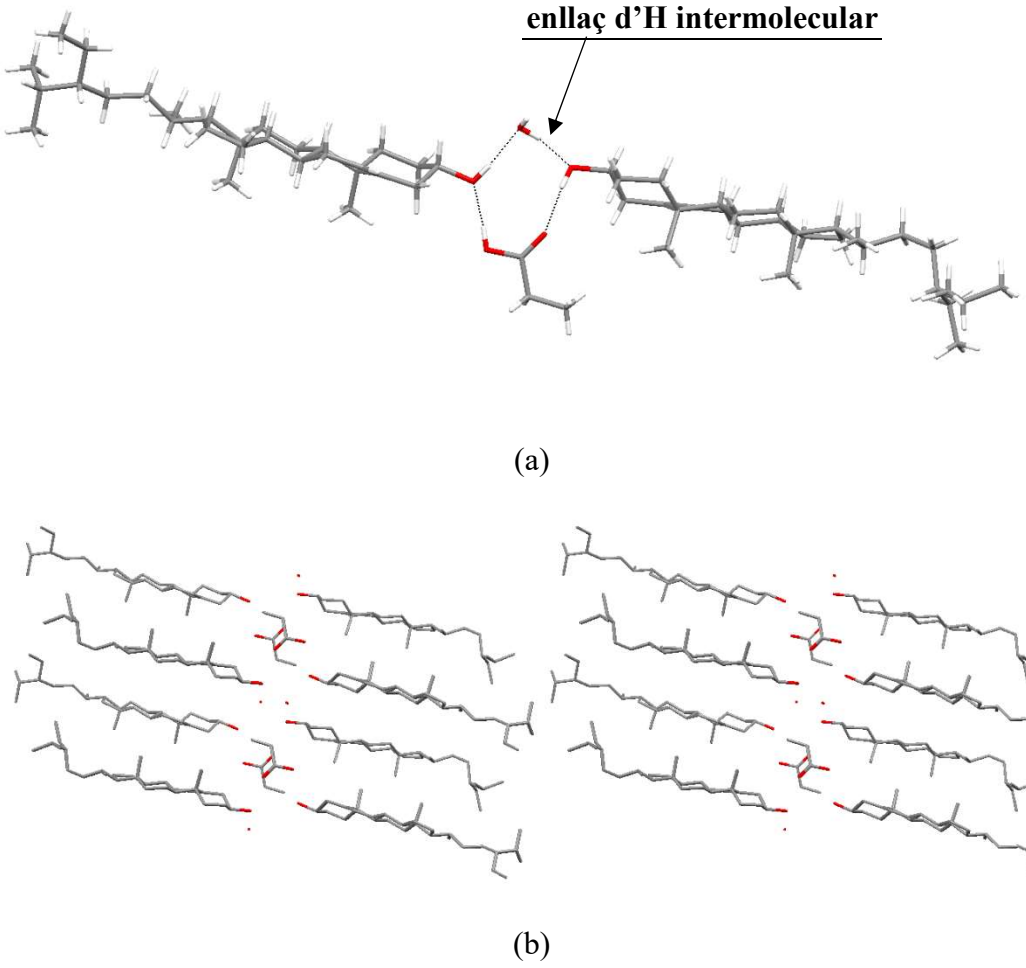


Fig. 4.23. (a) Representació de les interaccions d'enllaç d'hidrogen intermolecular que es generen entre les molècules que conformen la unitat asimètrica del cocristall: beta-sitosterol, àcid propiònic i aigua. (b) Representació de l'empaquetament de cocristall segons la visió de l'eix b

Finalment, es van determinar les composicions finals dels fitosterols presents en cada cocristall, una comparativa de solubilitats i de mida de partícula: beta-sitosterol (puresa ≥80.5%) *vs* cocristalls i s'han realitzat estudis *in vivo* en hàmsters on l'administració del beta-sitosterol en forma de cocristall fa augmentar els nivells de beta-sitosterol en plasma respecte al subministrament del beta-sitosterol comercial. Aquestes millores en les propietats fisicoquímiques del beta-sitosterol són les que han permès la preparació de la patent. Aquests resultats estan pendents de ser publicats un cop el procés de protecció intel·lectual finalitzi.

CAPÍTOL 5. CONCLUSIONS

La principal contribució d'aquesta tesi és la implementació d'unes metodologies d'*screening* versàtils per a la recerca de noves formes sòlides dissenyades i optimitzades durant el desenvolupament d'aquest treball. S'ha establert una manera de treballar semi-automàtica que és capaç d'adaptar-se a les demandes de la indústria farmacèutica i que a l'hora és modulable en el temps, en funció del progrés de l'estudi. El disseny i l'optimització de les metodologies d'*screening* s'han desenvolupat a partir de la combinació dels coneixements multidisciplinaris adquirits de diferents àrees com són els estudis d'estat sòlid, la cristal·lografia i l'enginyeria cristal·lina. L'aplicació de les metodologies a través de l'estudi de casos pràctics i la caracterització estructural de les noves formes descobertes han generat cinc publicacions. S'han obtingut 48 noves fases cristal·lines: polimorfs, solvats, sals, híbrids i cocristalls dels tres principis actius estudiats i 20 estructures cristal·lines que s'han resolt i analitzat, sent una d'elles resolta a partir de dades de difracció de raigs X de pols. A partir del descobriment i estudi d'aquestes 48 noves fases dels tres principis actius hem aprofundit en una sèrie de fenòmens de gran rellevància dins del camp de l'estat sòlid farmacèutic: la generació de formes sòlides a partir de la desolvatació de solvats que emmascaren la seva existència, la formació d'híbrids sal-cocristall o la constatació que l'aparició de productes secundaris condicionen la recerca de noves formes sòlides. Així doncs, es poden resumir els resultats i extreure les següents conclusions:

- S'han dissenyat i optimitzat metodologies generals d'*screening* per a la realització d'estudis de polimorfisme i de cocristalls a escala d'un gram.

- S'han implementat metodologies generals de manera versàtil a través de l'aplicació a principi actius.

- El gran nombre de formes sòlides descobertes validen les metodologies desenvolupades i formen el corpus de dades que ha permès aprofundir en l'estudi de diversos fenòmens en el camp de l'estat sòlid com són el morfotropisme, la formació de compostos híbrids sal-cocristall i les interaccions intermoleculars anió-anió i l'anàlisi i discussió dels quals s'ha plasmat en la publicació de quatre articles científics.

- A partir de les millores de les propietats fisicoquímiques i de les proves de biodisponibilitat *in vivo* dels cocristalls descoberts del principi actiu nutracèutic beta-sitosterol s'ha generat una patent.

BIBLIOGRAFIA

[1] Llinas, A.; Barbas, R.; Font-Bardia, M.; Smailagic, A.; Prohens, R. Derisking Development by a Cocrystallization Screen of a Novel Selective Inhaled JAK-STAT inhibitor, *Cryst. Growth Des*., **2019**, *19*, 1, 403-414.
[2] Grant, D.J.W.; Byrn, S.R. A timely re-examination of drug polymorphism in pharmaceutical development and regulation, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2004**, *56*, 237-239.
[3] Rodríguez-Spong, B.; Price, C.P.; Jayasankar, A.; Matzger, A.J.; Rodríguez-Hornedo, N. General principles of phramaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective, *Adv. Drug Deliv. Rev*., **2004**, *56*, 241-7.
[4] Kersten, K.; Kaur, R.; Matzger, A. Survey and analysis of crystal polymorphism in organic structures, *IUCrJ*, **2018**, *5*, 1-6.
[5] DiMasi, J. A.; Grabowski, H. G.; Hansen, R. W. Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs, *Journal of Health Economics*, **2016**, *47*, 20-33.
[6] Quere, L.; Riedner, J.; Wolff, H.-M. Novel Polymorphic Form of Rotigotine and Process for Production, U.S. Patent 8,232,414 B2, **2012**.
[7] Laird, T. Special feature section: polymorphism & crystallization, *Organic Process Research and Development*, **2005**, *9*, 857.
[8] Barbas, R.; Puigjaner, C.; Prohens, R. Assembling the Puzzle of Apixaban Solid Forms, *Mol. Pharmaceutics,* **2018**, *15*, 1909-1916.
[9] Cabri, W.; Ghetti, P.; Pozzi, G.; Alpegiani, M. Polymorphism and Patent, Market, and legal Battles: Cefdinir Cas a Study, *Organic Process Research & Development,* **2007**, *11*, 64-72.
[10] Lippold, B. C.; Ohm, A. Correlation between wettability and dissolution rate of pharmaceutical powders, *Int. J. Pharm*., **1986**, *28*, 67-74.
[11] Bacchi, A.; Brillante; A.; Crocco, D.; Chierotti, M. R.; Della Valle, R. G.; Girlando, A.; Masino, M.; Pelagatti, P.; Venuti, E. Exploration of the polymorph landscape for 1,1,4,4-tetraphenyl-1,3-butadiene, *CrystEngComm*, **2014**, *16*, 8205-8213.
[12] Tros de Ilarduya, M. C.; Martín, C.; Goñi, M. M.; Martínez-Uhárriz, M. C. Dissolution Rate of Polymorphs and Two New Pseudopolymorphs of Sulindac, *Drug Dev. Ind. Pharm*., **1997**, *23*, 1095-1098.
[13] Fini, A.; Fazio, G.; Feroci, G. Solubility and solubilization properties of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Int. J. Pharm.*, **1995**, *126*, 95-102.
[14] Shan, N.; Perry, M. L.; Weyna, D. R.; Zaworotko, M. J. Impact of pharmaceutical cocrystals: the effects on drug pharmacokinetics, *Expert Opin. Drug Metab*., **2014**, *10*, 1255-1271.
[15] FDA (Food and Drug Administration) Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals (Guidance for Industry) **2016**.
[16] FDA (Food and Drug Administration) Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals (Guidance for Industry) **2018**.
[17] Liebig, J.; Wohler, F. Ann. *Pharm. III*, **1832**, *249*, 514.
[18] Chemburkar, S.R.; Bauer, J.; Deming, K.; Spiwek, H.; Patel, K.; Morris, J.; Henry, R.; Spanton, S.; Dziki, W.; Porter, W.; Quick, J.; Bauer, P.; Donaubauer, J.; Narayanan, B. A.; Soldani, M.; Riley, D.; McFarland, K. Dealing with the Impact of Ritonavir Polymorphs on the Late Stages of Bulk drug proccess, *Development Organic Process Research & Development,* **2000**, *4*, 413-417.
[19] Burger, A.; Ramberger, R. On the Polymorphism of Pharmaceuticals and Other Molecular Crystals I, *Mikrochimica Acta,* **1979**, *2*, 259-271.
[20] Burger, A.; Ramberger, R. On the Polymorphism of Pharmaceuticals and Other Molecular Crystals II, *Mikrochimica Acta*, **1979**, *2*, 273-316.
[21] Bucar, D. K.; Lancaster, R. W.; Bernstein, J. Dissapearing Polymorphs Revisited, *Angew.Chem. Int. Ed*., **2015**, *54*, 6972-6993.

[22] Price, S. L. Computational prediction of organic crystal structures and polymorphism, *International Reviews in Physical Chemistry*, **2008**, *27*(3), 541-568.
[23] Price, S. L. Why don't find more polymorphs?, *Acta Cryst*., **2013**, *B69*, 313-328.
[24] Bhardwaj, R. M.; Price, L. S.; Price, S. L.; Reutzel-Edens, S. M.; Miller, G. J.; Oswald, I. D. H.; Johnston, B. F.; Florence, A. J. Exploring the Experimental and Computed Crystal Energy Landscape of Olanzapine, *Cryst. Growth Des*., **2013**, *13*, 1602-1617.
[25] Neumann, M. A.; van de Streek, J.; Fabbiani, F. P. A.; Hidber, P.; Grassmann, O. Combined crystal structure prediction and high-pressure crystallization in rational pharmaceutical polymorph screening, *Nature Communications*, **2015**, *6*, Article number: 7793.
[26] Dryzun, C.; Avnir, D. On the abundance of chiral crystals, *Chem. Commun*., **2012**, *48*, 5874-5876.
[27] Nyman, J.; Day, G. M. Static and lattice vibrational energy differences between polymorphs, *CrystEngComm*, **2015**, *17*, 5154-5165.
[28] Hunter, C. A.; Prohens, R. Solid form and solubility, *CrystEngComm*, **2017**, *19*, 23-26.
[29] Grant, D. J. W.; Higuchi, T. Solubility Behavior of Organic Compounds, Wiley, New York, **1990**.
[30] Huang, L. F.; Tong, W. Q. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2004**, *56*, 321-334.
[31] Yu, L. Inferring thermodynamic stability relationship of polymorphs from melting data, *J. Pharm. Sci*., **1995**, *84*, 966-974.
[32] Grunenberg, A.; Henck, J.-O.; Siesler, H. W. Theoretical derivation and practical application of energy/temperature diagrams as an instrument in preformulation studies of polymorphic drug substances, *International Journal of Pharmaceutics*, **1996**, *129*, 147-158.
[33] Yu, L.; Reutzel, S. M.; Stephenson, G. A. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy, *PSTT*, **1998**, *1*(3), 118-127.
[34] Byrn, S. R.; Pfeiffer, R. R.; Stowel, J. G. Solid-State Chemistry of Drugs, SSCI, West Lafayette, Ind, **1999**.
[35] Portell, A.; Barbas, R.; Braga, D.; Polito, M.; Puigjaner, C.; Prohens, R. New polymorphic hydrogen bonding donor–acceptor system with two temperature coincident solid-solid transitions, *CrystEngComm*, **2009**, *11*, 52-54.
[36] Belenguer, A. M.; Lampronti, G. I.; Cruz-Cabeza, A. J.; Hunter, C. A.; Sanders, J. K. M. Solvation and surface effects on polymorph stabilities at the nanoscale, *Chem. Sci*., **2016**, *7*, 6617-6627.
[37] Belenguer, A. M., Lampronti, G. I., De Mitri, N., Driver, M., Hunter, C. A., Sanders, J. K. M. Understanding the Influence of Surface Solvation and Structure on Polymorph Stability: A Combined Mechanochemical and Theoretical Approach, *J. Am. Chem. Soc*., **2018**, *140*(49), 17051-17059.
[38] Kálmán, A. Morphotropism: link between the isostructurality, polymorphism and (stereo)isomerism of organic crystals, *Acta Cryst*., **2005**, *B61*, 536-547.
[39] Gonnade, R. G.; Bhadbhade, M. M.; Shashidhar, M. S. Crystal-to-crystal thermal phase transition amongst dimorphs of hexa-O-p-toluoyl-myo-inositol conserving two-dimensional isostructurality, *CrystEngComm*, **2010**, *12*, 478-484.
[40] Kálmán, A.; Fábián, L. Structural similarities in tetraaryltins described by virtual non-crystallographic rotations or translations: Kitaigorodskii's morphotropism is revisited, *Acta Cryst*., **2007**, *B63*, 411-417.

[41] Kálmán, A.; Párkányi, L.; Argay, G. Classification of the isostructurality of organic molecules in the crystalline State, *Acta Cryst*., **1993**, *B49*, 1039-1049.
[42] Jha, K. K.; Dutta, S.; Kumarb, V.; Munshi, P. Isostructural polymorphs: qualitative insights from energy frameworks, *CrystEngComm*, **2016**, *18*, 8497-8505.
[43] Dey, D.; Thomas, S. P.; Spackman, M. A.; Chopra, D. 'Quasi-isostructural polymorphism' in molecular crystals: inputs from interaction hierarchy and energy frameworks, *Chem. Commun*., **2016**, *52*, 2141-2144.
[44] Cruz-Cabeza, A. J.; Bernstein, J. Conformational Polymorphism, *Chem. Rev*., **2014**, *114*(4), 2170-2191.
[45] Hancock, B. C.; Parks, M. What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals?, *Pharmaceutical Research*, **2000**, *17*(4), 397-404.
[46] Giron, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates, *Thermoquimica Acta*, **1995**, *248*, 1-59.
[47] Yu, L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2001**, *48*, 27-42.
[48] Dengale, S. J.; Grohganz, H.; Rades, T.; Löbmann, K. Recent advances in co-amorphous drug formulations, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2016**, 100, 116-125.
[49] Poole, P. H.; Grande, T.; Angell, C. A.; McMillan, P. F. Polymorphic Phase Transitions in Liquids and Glasses, *Science*, **1997**, *275*, 322-323.
[50] Aitipamula, S.; Banerjee, R.; Bansal, A. K.; Biradha, K.; Cheney, M. L.; Choudhury, A. R.; Desiraju, G. R.; Dikundwar, A. G.; Dubey, R.; Duggirala, N.; Ghogale, P. P.; Ghosh, S.; Goswami, P. K.; Goud, N. R.; Jetti, R. R. K. R.; Karpinski, P.; Kaushik, P.; Kumar, D.; Kumar, V.; Moulton, B.; Mukherjee, A.; Mukherjee, G.; Myerson, A. S.; Puri, V.; Ramanan, A.; Rajamannar, T.; Reddy, C. M.; Rodriguez-Hornedo, N.; Rogers, R. D.; Guru Row, T. N.; Sanphui, P.; Shan, N.; Shete, G.; Singh, A.; Sun, C. C.; Swift, J. A.; Thaimattam, R.; Thakur, T. S.; Thaper,, R. K.; Thomas, S. P.; Tothadi, S.; Vangala, V. R.; Variankaval, N.; Vishweshwar, P.; Weyna, D. R.; Zaworotko, M. J. Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name?, *Cryst. Growth Des*., **2012**, *12*, 2147-2152.
[51] Grothe, E.; Meekes, H.; Vlieg, E.; ter Horst, J. H.; de Gelder, R. Solvates, Salts, and Cocrystals: A Proposal for a Feasible Classification System, *Cryst.Growth Des*., **2016**, *16*, 3237-3243
[52] Brittain, H. G. Polymorphism and Solvatomorphism, *J. Pharm. Sci*., **2012**, *101*(2), 464-484.
[53] Khankari, R. K.; Grant, D. J. W. Pharmaceutical hydrates, *Thermochimica Acta*, **1995**, *248*, 61-79.
[54] Gillon, A. L.; Feeder, N.; Davey, R. J.; Storey, R. Hydration in Molecular Crystals - A Cambridge Structural Database Analysis, *Crystal Growth & Design*, **2003**, *5*(3), 663-673.
[55] Infantes, L.; Fábián, L.; Sam Motherwell, W. D. Organic crystal hydrates: what are the important factors for formation, *CrystEngComm*, **2007**, *9*, 65-71.
[56] Griesser, U.J. The importance of solvates. In: Hilfiker R, ed. Polymorphism in the Pharmaceutical Industry, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., **2006**: 211-257.
[57] Zhu, H.; Yuen, C.; Grant, D. J. W. Influence of water activity in organic solvent water mixtures + water mixtures on the nature of the crystallizing drug phase. 1. Theophylline, *International Journal of Pharmaceutics*, **1996**, *135*, 151-160.
[58] Vippagunta, S. R.; Brittain, H. G.; Grant, D. J. W. Crystalline solids, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2001**, *48*, 3-26.
[59] Authelin, J-R. Thermodynamics of non-stoichiometric pharmaceutical hydrates International, *Journal of Pharmaceutics*, **2005**, *303*, 37-53.
[60] Infantes, L.; Motherwell, S. Water clusters in organic molecular crystals,

CrystEngComm, **2002**, *4*(75), 454-461.
[61] Mascal, M.; Infantes, L.; Chisholm, J. Water Oligomers in Crystal Hydrates –What's News and What Isn't?, *Angew. Chem. Int. Ed*., **2006**, *45*, 32-36.
[62] Prohens, R.; Barbas, R.; Portell, A.; Font-Bardia, M.; Alcobé, X.; Puigjaner, C. Expanding the Crystal Form Landscape of the Antiviral Drug Adefovir Dipivoxil, *Cryst. Growth Des*., **2015**, *15*, 475-484.
[63] Byard, S.; Abraham, A.; Boulton, P. J. T.; Harris, R. K.; Hodgkinson, P. A Multi-Technique Approach to the Study of Structural Stability and Desolvation of Two Unusual Channel Hydrate Solvates of Finasteride, *J. Pharm. Sci*., **2012**, *101*, 176-186.
[64] Stahl, P. H.; Wermuth, C. G. Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Wiley-vch, **2002**.
[65] Tong, W-Q; Whitesell, G. In Situ Salt Screening - A Useful Technique for Discovery Support and Preformulation Studies, *Pharmaceutical Development and Technology*, **1998**, *3*(2), 215-223.
[66] Guerrieri, P.; Taylor, L. S. Role of salt and excipient properties on disproportionation in the solid-state, *Pharmaceutical Research,* **2009**, *26*(8), 2015-2026.
[67] Nie, H.; Byrn, S. R.; Zhou, Q. T. Stability of pharmaceutical salts in solid oral dosage forms, *Drug Dev. Ind. Pharm*., **2017**, *43*(8), 1215-1228.
[68] Kavanagh, O. N.; Croker, D. M.; Walker, G. M.; Zaworotko, M. J. Pharmaceutical cocrystals from serendipity to design to application, *Drug Discov. Today*, **2019**, *24*(3), 796-804.
[69] Shan, N.; Perry, M. L.; Weyna, D. R.; Zaworotko, M. J. Impact of pharmaceutical cocrystals: the effects on drug pharmacokinetics, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol*., **2014**, *10*(9), 1255-1271.
[70] EMA Reflection Paper on the Use of Cocrystals of Active Substances in Medicinal Products, **2015**. EMA
[71] Shan, N.; Zaworotko, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science, *Drug Discovery Today*, **2008**, *13*(9-10), 440-446.
[72] FDA, "SAF: Substances Added to Food (formerly EAFUS)", https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm115326.htm. **2019**.
[73] FDA, "GRAS: Generally Recognized as Safe", https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/. **2019**.
[74] Desiraju, G. R. Crystal Engineering: The Design of Organic Solids, Elsevier. **1989**.
[75] Desiraju, G. R. Supramolecular Synthons in Crystal Engineering-A New Organic Synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. **1995**, *34*, 2311-2327.
[76] Yuriy A. Abramov , Y. A.; Loschen, C.; Klamt, A. Rational Coformer or Solvent Selection for Pharmaceutical Cocrystallization or Desolvation, *J. Pharm, Sci*., **2012**, *101*(10), 3687-3697.
[77] Grecu, T.; Adams, H.; Hunter, C. H.; McCabe, J. F.; Portell, A.; Prohens, R. Virtual Screening Identifies New Cocrystals of Nalidixic Acid, *Cryst. Growth Des*., **2014**, *14*, 1749-1755.
[78] Grecu, T.; Prohens, R.; McCabe, J. F.; Carrington, E. J.; Wright, J. S.; Brammer, L.; Hunter, C. H. Cocrystals of spironolactone and griseofulvin based on an in silico screening method, *CrystEngComm*, **2017**, *19*, 3592-3599.
[79] Llinas, A.; Barbas, R.; Font-Bardia, M.; Quayle, M. J.; Velaga, S.; Prohens, R. Two New Polymorphic Cocrystals of Zafirlukast: Preparation, Crystal Structure, and Stability Relations, *Cryst. Growth Des*., **2015**, *15*, 4162-4169.
[80] Braga, D.; Grepioni, F.; Shemchuk, O. Organic-inorganic ionic co-crystals: a new class of multipurpose compounds, *CrystEngComm*, **2018**, *20*, 2212-2220.

[81] Mekala, R.; Jagdish, P.; Mathammal, R,; Sangeetha, K. Screening and structural elucidation of the zwitterionic cocrystal o-picolinic acid with p-nitro aniline, *Journal of Molecular Structure,* **2017**, *1134*, 520-529.
[82] Braga, D.; Grepioni, F.; Maini, L.; Prosperi, S.; Gobetto, R.; Chierotti, M. R. From unexpected reactions to a new family of ionic co-crystals: the case of barbituric acid with alkali bromides and caesium iodide, *Chem. Commun*., **2010**, *46*, 7715–7717.
[83] Braga, D.; Grepioni, F.; Lampronti, G. I.; Maini, L.; Turrina, A. Ionic Co-crystals of Organic Molecules with Metal Halides: A New Prospect in the Solid Formulation of Active Pharmaceutical Ingredients, *Cryst. Growth Des*., **2011**, *11*, 5621-5627.
[84] Jacobs, A.; Amombo Noa, F. M. Hybrid Salt–Cocrystal Solvate: p-Coumaric Acid and Quinine System, *J. Chem Crystallogr*., **2014**, *44*, 57-62.
[85] Gilli, P.; Preto, L.; Bertolasi, V.; Gilli, G. Predicting Hydrogen-Bond Strengths from Acid-Base Molecular Properties. The pKa Slide Rule Toward the Solution of a Long-Lasting Problem, *Acc. Chem. Research*, **2009**, *42*(1), 33-44.
[86] Childs, S. L.; Stahly, G. P.; Park, A. The Salt-Cocrystal Continuum: The Influence of Crystal Structure on Ionization State, *Mol. Pharmaceutics,* **2007**, *4*, 323-338.
[87] Lee, R., Firbank, A. J.; Probert, M. R.; Steed, J. W. Expanding the Pyridine−Formic Acid Cocrystal Landscape under Extreme Conditions, *Cryst. Growth Des.,* **2016**, *16*, 4005-4011.
[88] Cruz-Cabeza, A. J. Acid-base crystalline complexes and the pKa rule, *CrystEngComm*, **2012**, *14*, 6362-6365.
[89] Pratik, S. M.; Datta, A. Nonequimolar Mixture of Organic Acids and Bases: An Exception to the Rule of Thumb for Salt or Cocrystal, *J. Phys. Chem. B.*, **2016**, *120*, 7606-7613.
[90] Chiarella, R. A.; Davey, R. J.; Peterson, M. L. Making Co-Crystals The Utility of Ternary Phase Diagrams, *Crystal Growth & Design*, **2007**, *7*(7), 1223-1226.
[91] Yamashita, H.; Hirakura, Y.; Yuda, M.; Teramura, T.; Terada, K. Detection of Cocrystal Formation Based on Binary Phase Diagrams Using Thermal Analysis, *Pharm. Res.,* **2013**, *30*, 70-80.
[92] Goud, N. R.; Suresh, K.; Sanphui, P.; Nangia, A. Fast dissolving eutectic compositions of curcumin, *International Journal of Pharmaceutics*, **2012**, *439*, 63-72.
[93] Cruz-Cabeza, A. J.; Lestari, M.; Lusi, M. Cocrystals Help Break the "Rules" of Isostructurality: Solid Solutions and Polymorphism in the Malic/Tartaric Acid System, *Cryst. Growth Des*., **2018**, *18*, 855-863.
[94] Chen, S.; Xi, H.; Henry, R. D.; Marsden, I.; Zhang, G. G. Z. Chiral co-crystal solid solution: structures, melting point phase diagram, and chiral enrichment of (ibuprofen)2(4,4-dipyridyl), *CrystEngComm*, **2010**, *12*, 1485-1493.
[95] Good, D. J.; Rodríguez-Hornedo, N. Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals, *Crystal Growth & Design*, **2009**, *9*(5), 2252-2264.
[96] Good, D. J.; Rodríguez-Hornedo, N. Cocrystal Eutectic Constants and Prediction of Solubility Behavior, *Crystal Growth & Design*, **2010**, *10*(3), 1028-1032.
[97] Kuminek, G.; Cao, F.; Bahia de Oliveira da Rocha, A.; Gonçalves Cardoso, S.; Rodríguez-Hornedo, N. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2016**, *101*, 143-166.
[98] Bethune, S. J.; Huang, N.; Jayasankar, A., Rodríguez-Hornedo, N. Understanding and Predicting the Effect of Cocrystal Components and pH on Cocrystal Solubility, *Cryst. Growth Des.,* **2009**, *9*(9), 3976-3988.
[99] Kuminek, G.; Rodríguez-Hornedo, N.; Siedler, S.; Rocha, H. V. A.; Cuffini, S. L.; Cardoso, S. G. How cocrystals of weakly basic drugs and acidic coformers might modulate solubility and stability, *Chem.Commun*., **2016**, *52*, 5832-5835.

[100] Amidon, G. L.; Lennernas, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability, *Pharm. Res*., **1995**, *12*, 413-420.
[101] K.G. Mooney, K. G.; Mintun, M. A.; Himmelstein, K. J.; Stella, V. J. Dissolution Kinetics of Carboxylic Acids I: Effect of pH Under Unbuffered Conditions, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1981**, *70*(1), 13-22.
[102] Guzmán, H. R.; Tawa, M.; Zhang, Z.; Ratanabanangkoon, P.; Shaw, P.; Gardner, C. L.; Chen, H.; Moreau, J.-P.; Almarsson, Ö.; Remenar, J. F. Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations, *J. Pharm. Sci.,* **2007**, *96*, 2686-2702.
[103] Babu, N. J.; Nangia, A. Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals, *Cryst. Growth Des.,* **2011**, *11*, 2662-2679.
[104] Suresh, K.; Nangia, A. Curcumin: pharmaceutical solids as a platform to improve solubility and bioavailability, *CrystEngComm*, **2018**, *20*, 3277-3296.
[105] Shekunov, B. Y.; York, P. Crystallization porcesses in pharmaceutical technology and drug delivery design, *Journal of Crystal Growth*, **2000**, *211*, 122-136.
[106] Mullin, J. W. Crystallization 4th Edition. Elsevier Butterworth-Heinemann, Ltd. Oxford. **2001**.
[107] Otto, D. P.; De Villiers, M. M. Solid State Concerns During Drug Discovery and Development: Thermodynamic and Kinetic Aspects of Crystal Polymorphism and the Special Cases of Concomitant Polymorphs, Co-Crystals and Glasses, *Current Drug Discovery Technologies*, **2017**, *14*, 72-105.
[108] Lutsko, J. F.; Nicolis, G. Theoretical Evidence for a Dense Fluid Precursor to Crystallization, *Phys. Rev. Lett*., **2006**, *96*, 046102.
[109] Davey, R. J.; Schroeder, S. L. M.; ter Horst, J. H. Nucleation of Organic Crystals - A Molecular Perspective, *Angew. Chem. Int. Ed.,* **2013**, *52*, 2166-2179.
[110] Hursthouse, M. B.; Huth, L. S.; Threlfall, T. L. Why Do Organic Compounds Crystallise Well or Badly or Ever so Slowly? Why Is Crystallisation Nevertheless Such a Good Purification Technique?, *Organic Process Research & Development*, **2009**, *13*, 1231-1240.
[111] Yu, L.; Reutzel-Edens, S. M.; Mitchell, C. A. Crystallization and Polymorphism of Conformationally Flexible Molecules: Problems, Patterns, and Strategies Organic, *Process Research & Development*, **2000**, *4*, 396-402.
[112] Flack, H. D. Chiral and Achiral Crystal Structures, *Helvetica Chimica Acta*, **2003**, *86*, 905-921.
[113] Weissbuch, I.; Lahav, M.; Leiserowitz, L. Toward Stereochemical Control, Monitoring, and Understanding of Crystal Nucleation, *Crystal Growth & Design*, **2003**, *3*(2), 125-150.
[114] Zhang, G. G. Z.; Gu, C. H.; Zell, M. T.; Burkhardt, R. T.; Munson, E. J.; Grant, D.J.W. Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs, *J. Pharm. Sci.,* **2002**, *91*, 1089-100.
[115] Fabbiani, F. P. A.; Allan, D. R.; David, W. I. F.; Moggach, S. A.; Parsons, S.; Pulham, C. R. High-pressure recrystallisation - a route to new polymorphs and solvates, *CrystEngComm*, **2004**, *6*(82), 505-511.
[116] Dawn, A.; Mirzamani, M.; Jones, C. D.; Yufit, D. S.; Qian, S.; Steed, J. W.; Kumari, H. Investigating the effect of supramolecular gelphase crystallization on gel nucleation, *Soft Matter*, **2018**, *14*, 9489-9497.
[117] Weissbuch, I,; Lahav, M.; Leiserowitz, L. Toward Steroechemical Control, Monitoring, and Undertanding of Crystal Nucleation, *Crystal Growth & Design*, **2003**, *3*(2), 125-150.

[118] Threlfall, T. Structural and Thermodynamic Explanations of Ostwald's Rule, *Organic Process Research & Development*, **2003**, *7*, 1017-1027.
[119] Bernstein, J.; Davey, R. J.; Henck, J-O. Concomitant Polymorphs, *Angew.Chem.Int. Ed*., **1999**, *38*(23), 3440-3461.
[120] Rafilovich, M.; Bernstein, J. Harris, R. K.; Apperley, D. C.; Karamertzanis, P. G.; Price, S. L. Groth's Original Concomitant Polymorphs Revisited, *Crystal Growth & Design,* **2005**, *5*(6), 2005, 2197-2209.
[121] Dunitz, J. D.; Bernstein, J. Disappearing Polymorphs, *Acc. Chem. Res*., **1995**, *28*, 193-200.
[122] Bučar, D-K.; Lancaster, R. W.; Bernstein, J. Disappearing Polymorphs Revisited, *Angew. Chem. Int. Ed.,* **2015**, *54*, 6972-6993.
[123] Steed, K. M.; Steed, J. W. Packing Problems: High Z′ Crystal Structures and Their Relationship to Cocrystals, Inclusion Compounds, and Polymorphism, *Chem. Rev.,* **2015**, *115*, 2895-2933.
[124] Vande Velde, C. M. L.; Tylleman, B.; Zeller, M.; Sergeyev, S. Structures of alkyl-substituted Tröger's base derivatives illustrate the importance of Z' for packing in the absence of strong crystal synthons, *Acta Crystallogr*., **2010**, *Sect. B* (66), 472-481.
[125] Sarma, B.; Roy, S.; Nangia, A. Polymorphs of 1,1-bis(4-hydroxyphenyl)cyclohexane and multiple Z' crystal structures by melt and sublimation crystallization, *Chem. Commun*., **2006**, 4918-4920.
[126] Kats, E.; Bernstein, J.; Lemmerer, A. A new polymorph of ammonium succinate – serendipity in action, *Acta Cryst*., **2019**, *C75*, 208-212.
[127] Hahn, T. International Tables for Crystallography. Vol. A, Space-Group Symmetry, Ed.; IUCr: Springer, **2005**.
[128] Kitaigorodskii, A. I. The principle of close packing and the condition of thermodynamic stability of organic crystals, *Acta Cryst*., **1965**, *18*(4), 585-590.
[129] Kitaigorodsky, A. I. Molecular Crystals and Molecules, Academic Press: New York and London **1973**.
[130] Müller, A. The van der Waals potential and the lattice energy of a n-CH_2 chain molecule in a paraffin crystal, **1936**, doi.org/10.1098/rspa.1936.0073.
[131] Arunan, E.; Desiraju, G. R.; Klein, R. A.; Sadlej, J.; Scheiner, S.; Alkorta, I.; Clary, D. C.; Crabtree, R. H.; Dannenberg, J. J. Hobza, P.; Kjaergaard, H. G.; Legon, A. C.; Mennucci, B.; Nesbitt, D. J. Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011), *Pure Appl. Chem.,* **2011**, *83*(8), 1637-1641.
[132] Madura,I. D.; Czerwińska, K.; Jakubczyk, M.; Pawełko, A.; Adamczyk-Woźniak, A.; Sporzyński, A. Weak C−H···O and Dipole−Dipole Interactions as Driving Forces in Crystals of Fluorosubstituted Phenylboronic Catechol Esters, *Cryst. Growth Des*., **2013**, *13*, 5344-5352.
[133] Desiraju, G. R.; Ho, P. S.; Kloo, L.; Legon, A. C.; Marquardt, R.; Metrangolo, P.; Politzer, P.; Resnati, G.; Rissanen, K. Definition of the halogen bond (IUPAC Recommendations 2013), *Pure Appl. Chem*., **2013**, *85*(8), 1711-1713.
[134] Hunter, C. A; Sanders, J. K. M. The Nature of π-π Interactions, *J. Am. Chem. Soc*., **1990**, *112*, 5525-5534.
[135] Ran, J.; Wong, M. W. Saturated Hydrocarbon-Benzene Complexes: Theoretical Study of Cooperative CH/π Interactions, *J. Phys. Chem. A*., **2006**, *110*, 9702-9709.
[136] Dougherty, D. A. The Cation - π Interaction, *Acc. Chem. Res*., **2013**, *46*(4), 885-893.
[137] Mooibroek, T. J.; Gamez, P.; Reedijk, J. Lone pair-π interactions: a new supramolecular bond?, *CrystEngComm*, **2008**, *10*, 1501-1515.

[138] Desijaru, G. R. Hydrogen Bridges in Crystal Engineering: Interactions without Borders, *Acc. Chem. Res*., **2002**, *35*, 565-573.
[139] Steiner, T. The Hydrogen Bond in the Solid State, *Angew. Chem. Int. Ed*., **2002**, *41*, 48-76.
[140] Prohens, R.; Portell, A.; Puigjaner, C.; Tomàs, S.; Fujii, K.; Harris, K. D. M.; Alcobé, X.; Font-Bardia, M.; Barbas, R. Cooperativity in Solid-State Squaramides, *Cryst. Growth Des.,* **2011**, **11**, 3725-3730.
[141] Chesman, A. S. R.; Hodgson,J. L.; Izgorodina, E. I.; Urbatsch, A. Turner, D. R.; Deacon, G.B.; Batten, S. R. Anion−Anion Interactions in the Crystal Packing of Functionalized Methanide Anions: An Experimental and Computational Study, *Cryst. Growth Des*. **2014**, *14*, 1922-1932.
[142] Rowland, R. S.; Taylor, R. Intermolecular Nonbonded Contact Distances in Organic Crystal Structures: Comparison with Distances Expected from van der Waals Radii, *J. Phys. Chem*., **1996**, *100*, 7384-7391.
[143] Dunitz, J. D.; Gavezzotti, A. Attractions and Repulsions in Molecular Crystals: What Can Be Learned from the Crystal Structures of Condensed Ring Aromatic Hydrocarbons?, *Acc. Chem. Res*., **1999**, *32*, 677-684.
[144] Etter, M. C. Hydrogen Bonds as Design Elements in Organic Chemistry, The *Journal of Physical Chemistry*, **1991**, *95*(12), 4601-4610.
[145] Donohue, J. The hydrogen bond in organic crystals, *J. Phys. Chem*., **1952**, *56*(4), 502-510.
[146] Walsh, R. D. B.; Bradner, M. W.; Fleischman, S.; Morales, L. A.; Moulton, B.; Rodríguez-Hornedo, N.; Zaworotko, M. J. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases, *Chem. Commun*., **2003**, 186-187.
[147] Mishra, M. K.; Desiraju, G. R.; Ramamurty, U.; Bond, A. D. Studying Microstructure in Molecular Crystals With Nanoindentation: Intergrowth Polymorphism in Felodipine, *Angew. Chem. Int. Ed*., **2014**, *53*, 13102-13105.
[148] Prasad, K. D.; Cherukuvada, S.; Stephen, L. D.; Row, T. N. G. Effect of inductive effect on the formation of cocrystals and eutectics, *CrystEngComm*, **2014**, *16*, 9930-9938.
[149] Spackman, M. A.; McKinnon, J. J. Fingerprinting intermolecular interactions in molecular crystals, *CrystEngComm*, **2002**, *4*(66), 378-392.
[150] McKinnon,J. J.; Jayatilaka, D.; Spackman, M. A. Towards quantitative analysis of intermolecular interactions with Hirshfeld surfaces, *Chem. Commun*., **2007**, 3814-3816.
[151] Cambridge Structural Database (CSD): **2019**.
[152] Barbas, R.; Polito, M.; Prohens, R.; Puigjaner, C. Polymorphism of (*S*)-triphenylglycol: kinetic dependent transformation of a new multipolymorphic system, *Chem. Commun.*, **2007**, 3538-3540.
[153] Lu, E.; Rodríguez-Hornedo, N.; Suryanarayanan, R. A rapid thermal method for cocrystal screening, *CrystEngComm*, **2008**, *10*, 665-668.
[154] Berry, D. J.; Seaton, C. C.; Clegg, W.; Harrington, R. W.; Coles, S. J.; Horton, P. N.; Hursthouse, M. B.; Storey, R.; Jones, W.; Friščić, T.; Blagden, N. Applying Hot-Stage Microscopy to Co-Crystal Screening: A Study of Nicotinamide with Seven Active Pharmaceutical Ingredients, *Crystal Growth & Design*, **2008**, *8*(5), 1697-1712.
[155] Castro, R.A.E.; Ribeiro, J. D. B.; Maria, T. M. R.; Silva, M. R.; Yuste-Vivas, C.; Canotilho, J.; Eusébio, M. E. S. Naproxen Cocrystals with Pyridinecarboxamide Isomers, *Cryst. Growth Des*., **2011**, *11*, 5396-5404.
[156] Tan, D.; Loots, L.; Friščić, T. Towards medicinal mechanochemistry: evolution of milling from pharmaceutical solid form screening to the synthesis of active pharmaceutical ingredients (APIs), *Chem. Commun*., **2016**, *52*, 7760-7781.

[157] Friščić, T; Reid, D. G.; Halasz, I.; Stein, R. S.; Dinnebier, R. E.; Duer, M. J. Ion- and Liquid-Assisted Grinding: Improved Mechanochemical Synthesis of Metal–Organic Frameworks Reveals Salt Inclusion and Anion Templating, *Angew. Chem. Int. Ed*., **2010**, *49*, 712 -715.
[158] Hasa, D.; Rauber, G. S.; Voinovich, D.; Jones, W. Cocrystal Formation through Mechanochemistry: from Neat and Liquid-Assisted Grinding to Polymer-Assisted Grinding, *Angew. Chem. Int. Ed.,* **2015**, *54*, 7371 –7375.
[159] Karki, S.; Friščić, T.; Jones, W. Control and interconversion of cocrystal stoichiometry in grinding: stepwise mechanism for the formation of a hydrogen-bonded cocrystal, *CrystEngComm*, **2009**, *11*, 470-481.
[160] Patil, H.; Tiwari, R. V.; Repka, M. A. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation, *AAPS PharmSciTech*, **2016**, *17*(1), 20-42.
[161] Gajda, M.; Nartowski, K. P.: Pluta, J.; Karolewicz, B. Continuous, one-step synthesis of pharmaceutical cocrystals via hot melt extrusion from neat to matrix-assisted processing – State of the art, *International Journal of Pharmaceutics*, **2019**, *558*, 426-440.
[162] Li, S.; Yu, T.; Tian, Y.; Lagan, C.; Jones, D. S.; Andrews, G. P. Mechanochemical Synthesis of Pharmaceutical Cocrystal Suspensions via Hot Melt Extrusion: Enhancing Cocrystal Yield, *Mol. Pharmaceutics,* **2018**, *15*, 3741-3754.
[163] Rehder, S.; Klukkert, M.; Löbmann, K. A. M.; Strachan, C. J.; Sakmann, A.; Gordon, K.; Rades, T.; Leopold, C. S. Investigation of the Formation Process of Two Piracetam Cocrystals during Grinding, *Pharmaceutics,* **2011**, *3*, 706-722.
[164] Gu, C-H; Young Jr., V.; Grant, D. J. W. Polymorph Screening: Influence of Solvents on the Rate of Solvent-Mediated Polymorphic Transformation, *J. Pharm. Sci.*, **2001**, *90*(11), 1878-1890.
[165] Qu, H.; Louhi-Kultanen, M.; Kallas, J. Additive Effects on the Solvent-Mediated Anhydrate/Hydrate Phase Transformation in a Mixed Solvent, *Crystal Growth & De*sign, **2007**, *7*(4), 724-729.
[166] Greco, K.; Bogner, R. Solution-Mediated Phase Transformation: Significance During Dissolution and Implications for Bioavailability, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, *101*(9), 2996 – 3018.
[167] Rodríguez-Hornedo, N.; Nehm, S. J.; Seefeldt, K. F.; Pagán-Torres, Y.; Falkiewicz, C. J. Reaction Crystallization of Pharmaceutical Molecular Complexes, *Molecular Pharmaceutics*, **2006**, *3*(3), 362-367.
[168] Friščić, T.; Childs, S.L.; Rizvic, S. S. A.; Jones, W. The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome, *CrystEngComm*, **2009**, *11*, 418-426.
[169] Halliwell, R. A.; Bhardwaj, R. M.; Brown, C. J.; Briggs, N. E. B.; Dunn, J.; Robertson, J.; Nordon, A.; Florence, A. J. Spray Drying as a Reliable Route to Produce Metastable Carbamazepine Form IV, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2017**, *106*, 1874-1880.
[170] Alhalaweh, A.; Kaialy, W.; Buckton, G.; Gill, H.; Nokhodchi, A.; Velaga, S. P. Theophylline Cocrystals Prepared by Spray Drying: Physicochemical Properties and Aerosolization Performance, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **2013**, *14*(1), 265-276.
[171] Rodrigues, M. A.; Tiago, J. M.; Duarte, A.; Geraldes, V.; Matos, H. A.; Azevedo, E. G. Polymorphism in Pharmaceutical Drugs by Supercritical CO_2 Processing: Clarifying the Role of the Antisolvent Effect and Atomization Enhancement, *Cryst. Growth Des*., **2016**, *16*, 6222-6229.

[172] Cuadra, I. A.; Cabañas, A.; Cheda, J. A. R.; Pando, C. Polymorphism in the co-crystallization of the anticonvulsant drug carbamazepine and saccharin using supercritical CO_2 as an anti-solvent, *The Journal of Supercritical Fluids,* **2018**, *136*, 60-69.
[173] Bhangu, S. K.; Ashokkumar, M.; Lee, J. Ultrasound Assisted Crystallization of Paracetamol: Crystal Size Distribution and Polymorph Control, *Cryst. Growth Des*., **2016**, *16*, 1934-1941.
[174] Pagire, S.; Korde, S.; Ambardekar, R.; Deshmukh, S.; Dash, R. C.; Dhumal, R.; Paradkar, A. Microwave assisted synthesis of caffeine/maleic acid cocrystals: the role of the dielectric and physicochemical properties of the solvent, *CrystEngComm*, **2013**, *15*, 3705-3710.
[175] Price, C. P.; Grzesiak, A.L.; Matzger, A. J. Crystalline Polymorph Selection and Discovery with Polymer Heteronuclei, *J. Am. Chem. Soc.,* **2005**, *127*, 5512-5517.
[176] Kohno, Y.; Ohno, H. Ionic liquid/water mixtures: from hostility to conciliation, *Chem. Commun*., **2012**, *48*, 7119-7130.
[177] Zeng, Q.; Mukherjee, A.; Müller, P.; Rogers, R. D.; Myerson, A. S. Exploring the role of ionic liquids to tune the polymorphic outcome of organic compounds, *Chem. Sci.*, **2018**, *9*, 1510-1520.
[178] Golovanov, D. G.; Lyssenko, K.A.; Antipin, M. Y.; Vygodskii, Y. S.; Lozinskaya, E. I.; Shaplov, A. S. Cocrystal of an Ionic Liquid with Organic Molecules as a Mimic of Ionic Liquid Solution, *Crystal Growth & Design*, **2005**, *5*(1), 337-340.
[179] Stoimenovski, J.; MacFarlane, D. R.; Bica, K.; Rogers, R. D. Crystalline vs. Ionic Liquid Salt Forms of Active Pharmaceutical Ingredients: A Position Paper, *Pharmaceutical Research*, **2010**, *27*(4), 521-526.
[180] Foster, J. A.; Damodaran, K. K.; Maurin, A.; Day, G. M.; Thompson, H. P. G.; Cameron, G. J.; Cuesta Bernal, J.; Steed, J. W. Pharmaceutical polymorph control in a drug-mimetic supramolecular gel, *Chem. Sci*., **2017**, *8*, 78-84.
[181] Cogo Machado, T.; Barboza Gelain, A.; Rosa, J.; Gonçalves Cardoso, S.; Caon, T. Cocrystallization as a novel approach to enhance the transdermal administration of meloxicam, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2018**, *123*, 184-190.
[182] Mittapalli, S.; Chaitanya Mannava, M. K.; Sahoo, R.; Nangia, A. Cocrystals, Salts, and Supramolecular Gels of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Niflumic Acid, *Cryst. Growth Des.,* **2019**, *19*, 219-230.
[183] Sarceviča, I.; Orola, L.; Nartowski, K. P.; Khimyak, Y. Z.; Round, A. N.; Fábián, L. Mechanistic and Kinetic Insight into Spontaneous Cocrystallization of Isoniazid and Benzoic Acid, *Mol. Pharmaceutics,* **2015**, *12*, 2981-2992.
[184] Tian, F.; Qu, H.; Zimmermann, A.; Munka, T.; Jørgensend, A. C.; Rantanen, J. Factors affecting crystallization of hydrates, *Journal of Pharmacy and Pharmacology,* **2010**, *62*, 1534-1546.
[185] Rockland, L. B. Saturated Salt Solutions for Static Control of Relative Humidity between 5 ° and 40 °C, *Anal. Chem.,* **1960**, *32*(10), 1375-1376.
[186] Raijada, D.; Bond, A. D.; Larsen, F. H.; Cornett, C.; Qu, H.; Rantanen, J. Exploring the Solid-Form Landscape of Pharmaceutical Hydrates: Transformation Pathways of the Sodium Naproxen Anhydrate-Hydrate System, *Pharm. Res.,* **2013**, *30*, 280-289.
[187] Newman, A. Specialized Solid Form Screening Techniques, *Org. Process Res. Dev.*, **2013**, *17*, 457-471.
[188] Malamatari, M.; Ross, S. A.; Douroumis, D.; Velaga, S. P. Experimental cocrystal screening and solution based scale-up cocrystallization methods, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2017**, *117*, 162-177.

[189] Karimi-Jafari, M.; Padrela, L.; Walker, G. M.; Croker, D. M. Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications, *Cryst. Growth Des.,* **2018**, *18*, 6370-6387.
[190] EPO – Espacenet at http://www.epo.org.
[191] Gu, C-H; Li, H.; Gandhi, R. B.; Raghavan, K. Grouping solvents by statistical analysis of solvent property parameters: implication to polymorph screening, *International Journal of Pharmaceutics*, **2004**, *283*, 117-125.
[192] Boultif, A.; Louër, D. Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method, *J. Appl. Crystallogr*. **1991**, *24*, 987-993.
[193] Le Bail, A.; Duroy, H.; Fourquet, J.L. Ab-initio structure determination of LiSbWO6 by X-ray powder diffraction, *Mat. Res. Bull*., **1988**, *23*(3), 447-452.
[194] Favre-Nicolin, V.; Černý, R. FOX, 'free objects for crystallography': a modular approach to ab initio structure determination from powder diffraction, *J. Appl. Crystallogr*. **2002**, *35*, 734-743.
[195] Young, R. A. The Rietveld Method, *International Union of Crystallography*, **1995**.
[196] Rietveld, H. M. *J. App. Cryst*, **1969**, *2*, 65-71.
[197] Rodriguez-Carvajal, J. Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction, *Phys. B* **1993**, *192*, 55-69.
[198] Patent EP0463756A1: *Pyrazolopyrimidinone antanginal agents*, **1991**.
[199] Duchamp, D., Olson, E., Chidester, C. Fentanyl and Its Analogue N-(1-Phenylpyrazol-3-yl)-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidyl]propanamide: ^{1}H- and ^{13}C-NMR Spectroscopy, X-Ray Crystallography, and Theoretical Calculations, *Am. Cryst. Assoc., Ser*., **1997**, *2*(5), 83.
[200] Peeters, O. M.; Blaton, N. M.; De Ranter, C. J.; Van Herk, A. M.; Goubitz, K. Crystal and molecular structure ofN-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinylium]-N-phenylpropanamide (fentanyl) citrate-toluene solvate, *Journal of Crystal and Molecular Structure*, **1979**, *9*(3), 153-161.
[201] ICDD (**2018**). PDF-4+ 2019. International Centre for Diffraction Data, Newtown Square, PA, USA
[202] Moreno-Calvo, E.; Temelli, F.; Cordoba, A.; Masciocchi, N.; Veciana, J.; Ventosa, N. A New Microcrystalline Phytosterol Polymorph Generated Using CO_2-Expanded Solvents, *Cryst. Growth. Design*. **2014**, *14*, 58-68.
[203] Perkins, R. J.; Shoemaker, R. K.; Carpenter, B. K.; Vaida, V. Chemical Equilibria and Kinetics in Aqueous Solutions of Zymonic Acid, *J. Phys. Chem. A*, **2016**, *120*, 10096-10107.
[204] Reichardt, R. Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry, WILEY-VCH. **2003**.
[205] FDA (Food and Drug Administration): Q3C *Impurities: Residual Solvents* - Q3C - *Tables and List Guidance for Industry*, **2017**.

APÈNDIX

APÈNDIX A. MATERIAL SUPLEMENTARI ARTICLE 1

Supporting information

Polymorphism of Sildenafil: A New Metastable Desolvate

Crystal Growth & Design, **2018**, 18, 3740-3746

Rafael Barbas,[1] Mercè Font-Bardia[2] and Rafel Prohens[1]

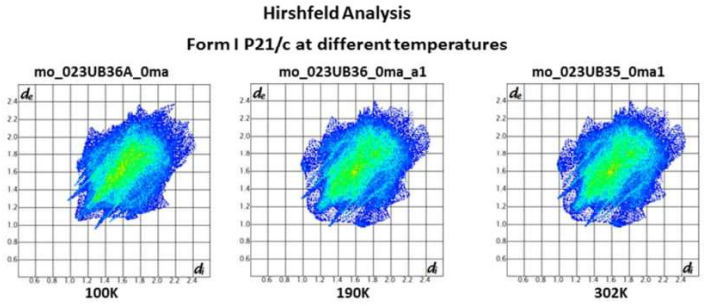
[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

1.- Hirshfeld analysis

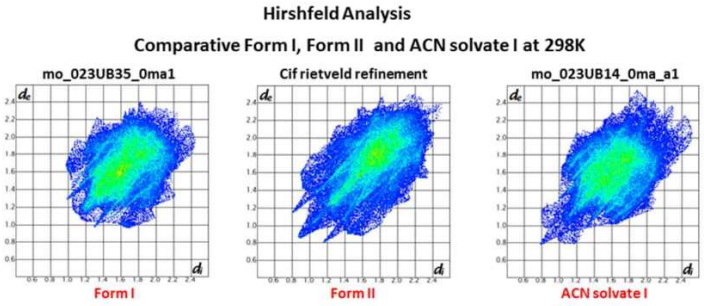
1.1 Hirshfeld surfaces fingerprint plots of different forms of Sildenafil: comparative footprint and contribution (%) of intermolecular contacts

Table 1. Contribution (%) of intermolecular contacts of form I of Sildenafil at different temperatures: comparative footprint



Contacts	mo_023UB36A_0ma 100K	mo_023UB36_0ma_a1 190K	mo_023UB35_0ma1 302K
C – H	9.0	8.8	8.7
H - H	55.0	55.8	56.1
N - H	9.1	8.7	8.6
O – H	19.0	19.1	19.2

Table 2. Contribution (%) of intermolecular contacts of forms of Sildenafil at 298K: comparative footprint



Contacts	mo_023UB35_0ma Form I	Rietveld refinement Form II	mo_023UB14_0ma_a ACN solvate I
C – H	8.7	9,5	11.2
H - H	56.1	55,0	51.8
N - H	8.6	8,3	13.1
O – H	19.2	19,2	16.6

2.- Characterization of the solids

Figure S1: DSC of form I at 10 °C/min

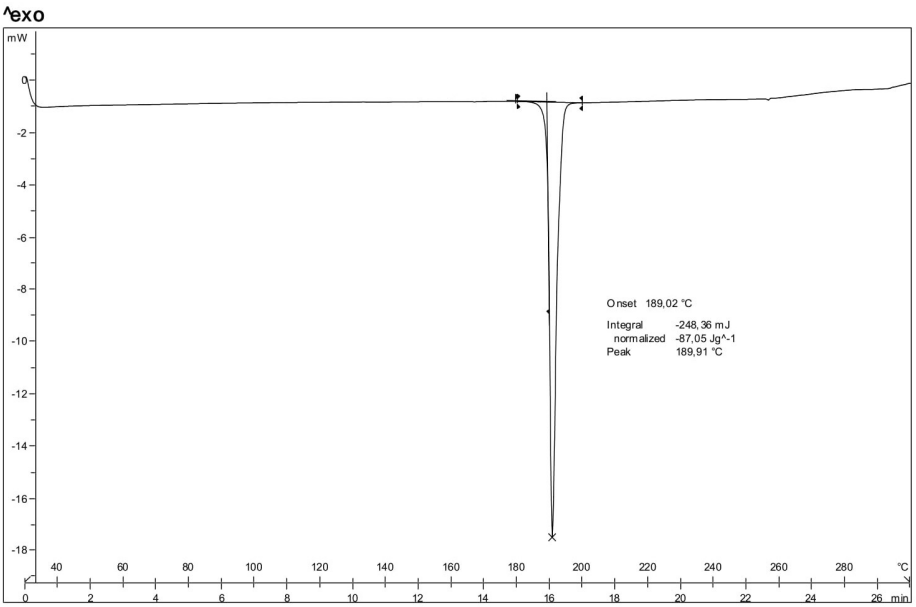


Figure S2: TGA of form I at 10 °C/min

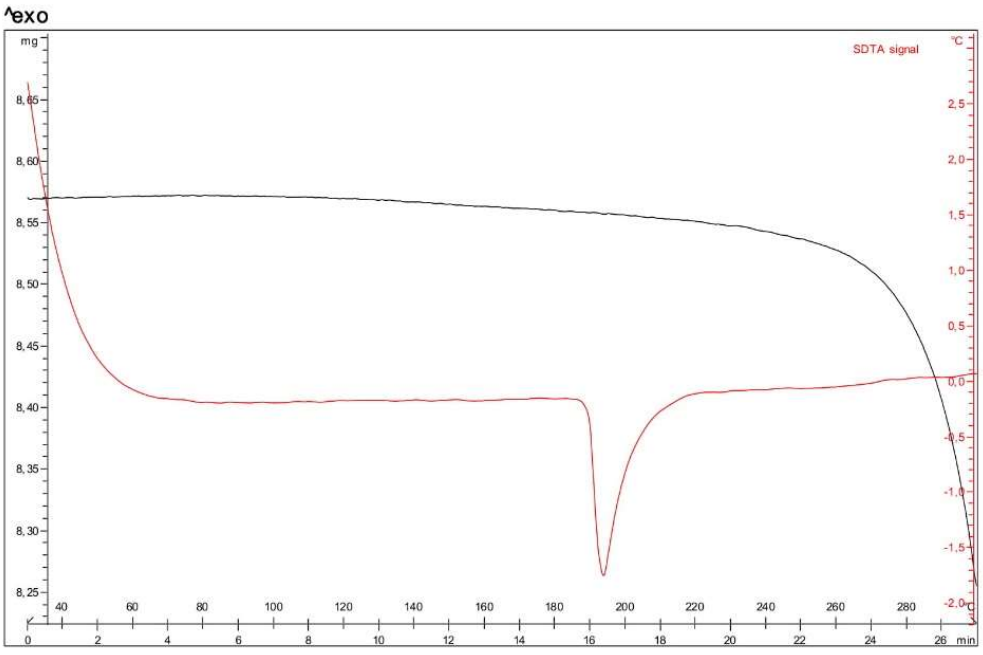


Figure S3: DSC of form I, quenching from the melt at 10 °C/min

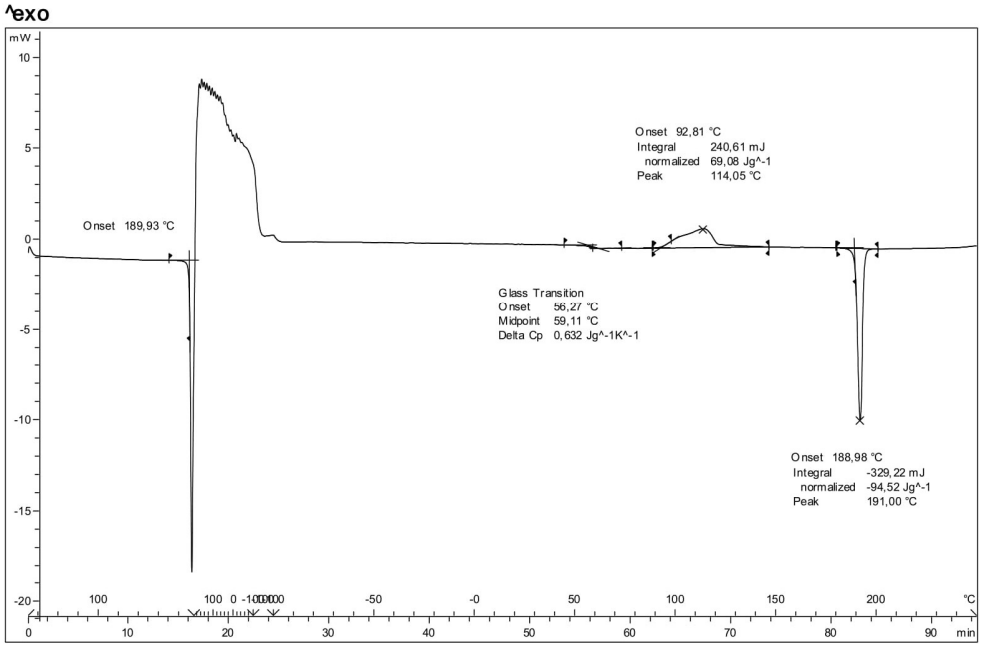


Figure S4: DSC of form II at 10 °C/min

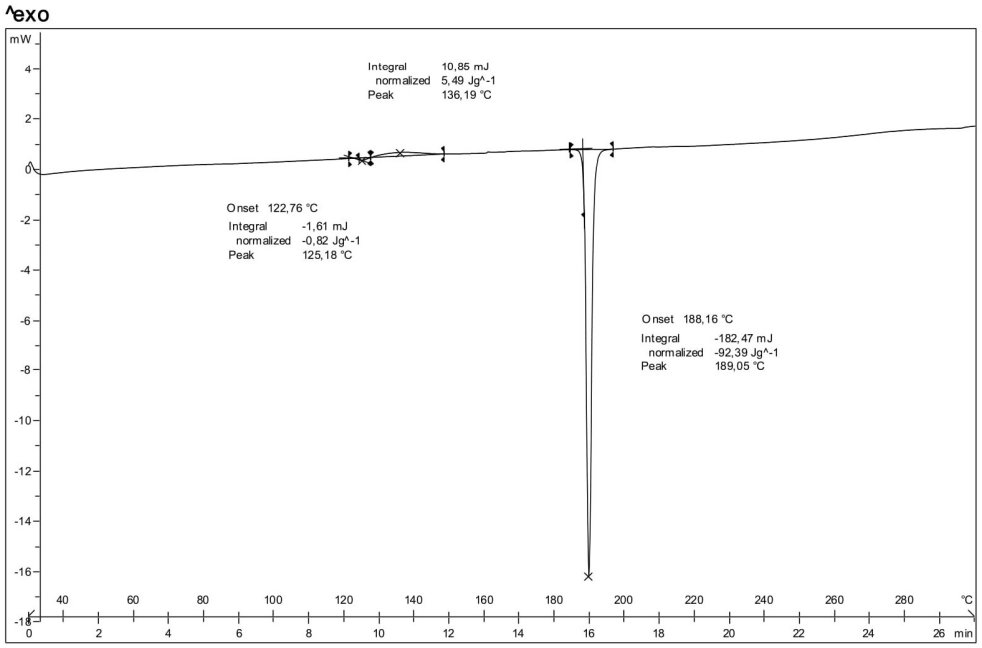


Figure S5: TGA of form II at 10 °C/min

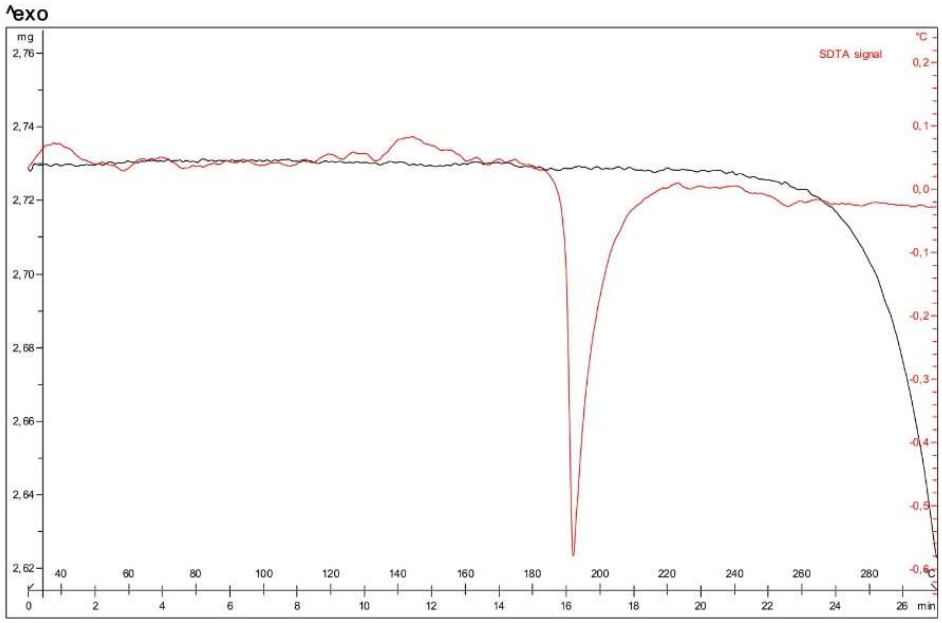


Figure S6: DSC of form II at different heating rates: 5, 10, 20 and 40 °C/min

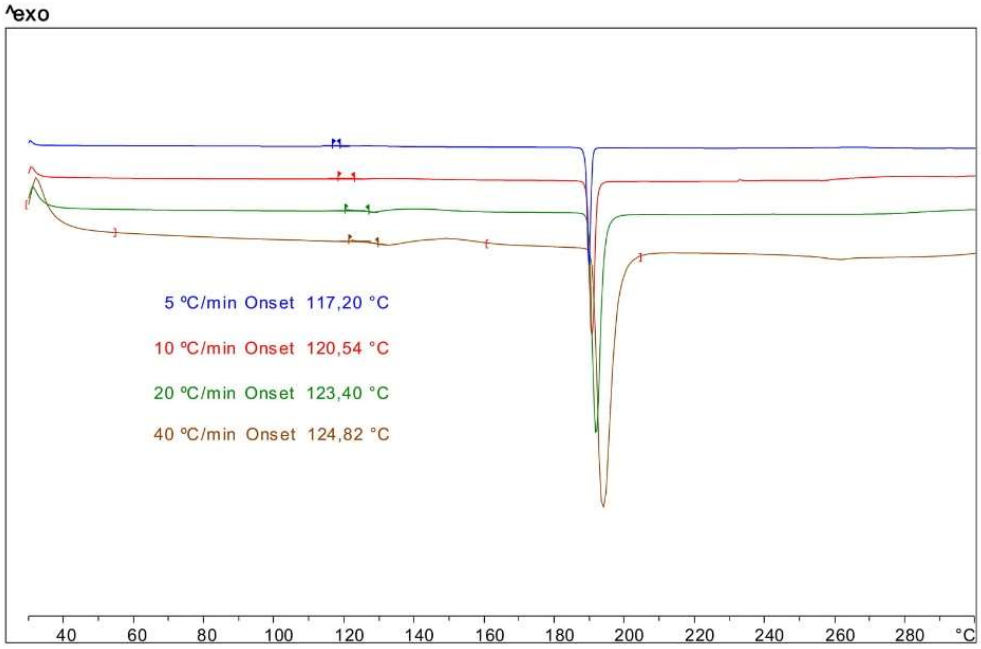


Figure S7: DSC of form II: non reversible transition. DSC thermogram between 95 ºC and 250 ºC

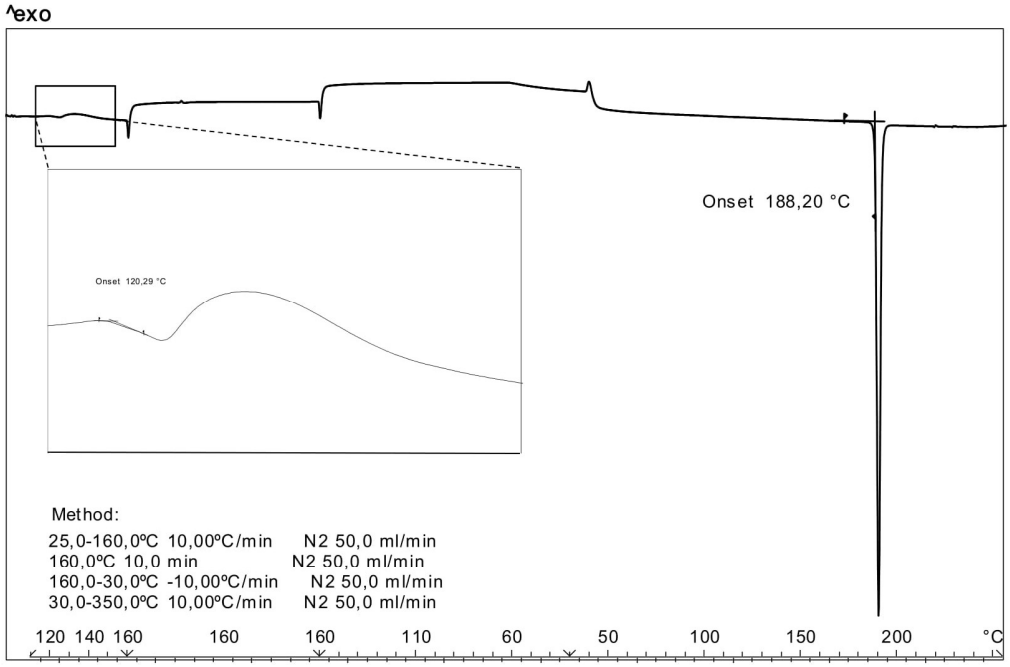


Figure S8: MDSC thermogram of form II at 1 ºC/min

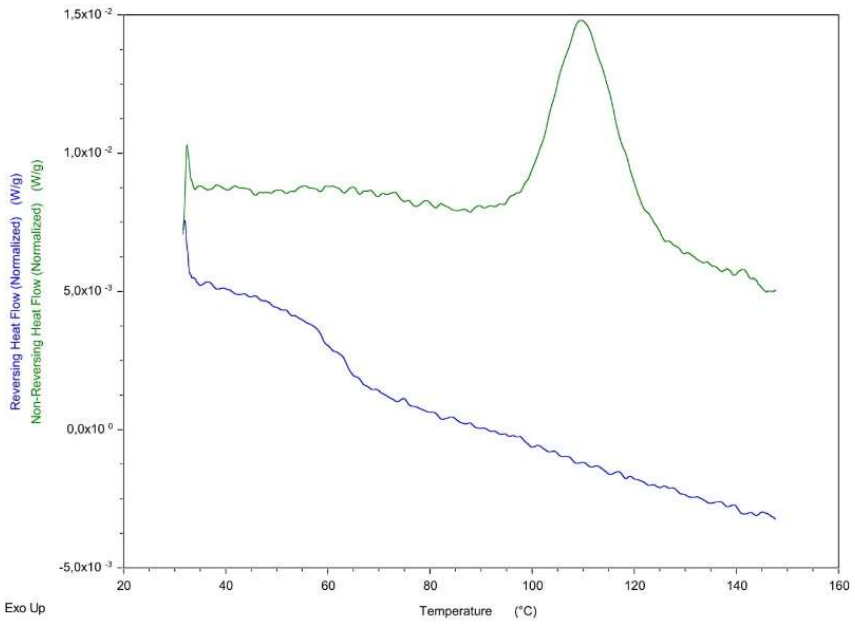


Figure S9: DSC of ACN solvate form II at 10 °C/min

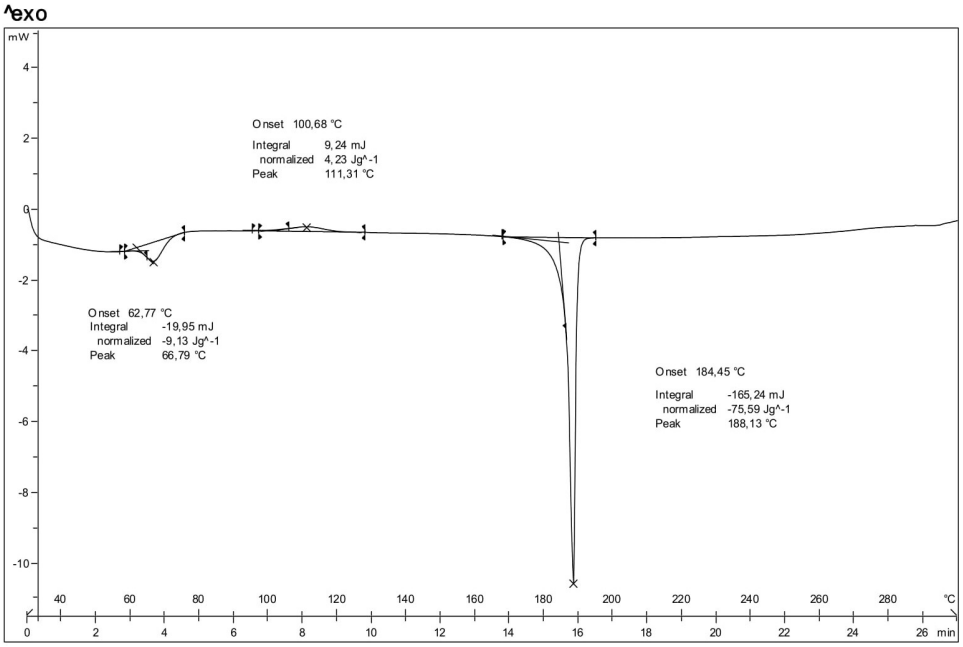


Figure S10: TGA of ACN solvate form II at 10 °C/min

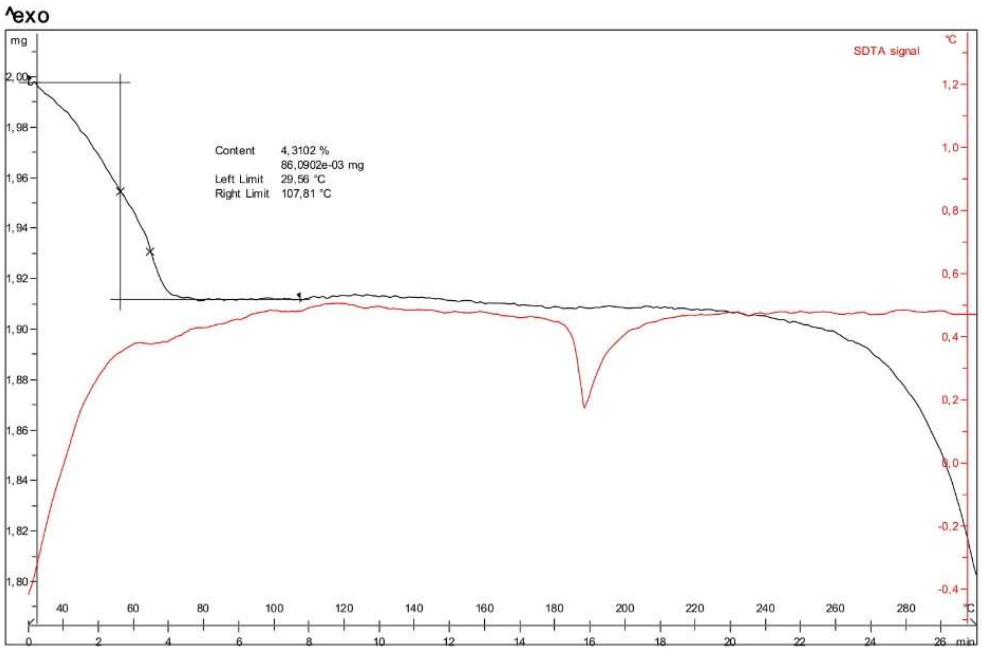


Figure S11: Comparison of the PXRD of forms I and II from 1 to 40 2θ

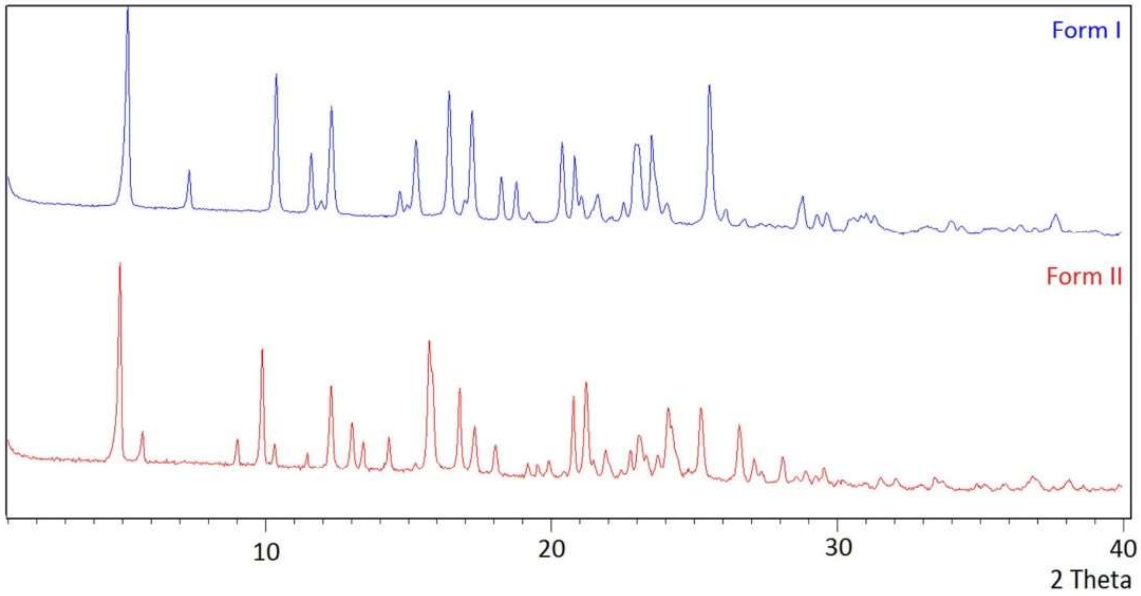


Figure S12: Comparison of the PXRD of ACN solvate forms ACN_I and ACN_{II} from 1 to 40 2θ

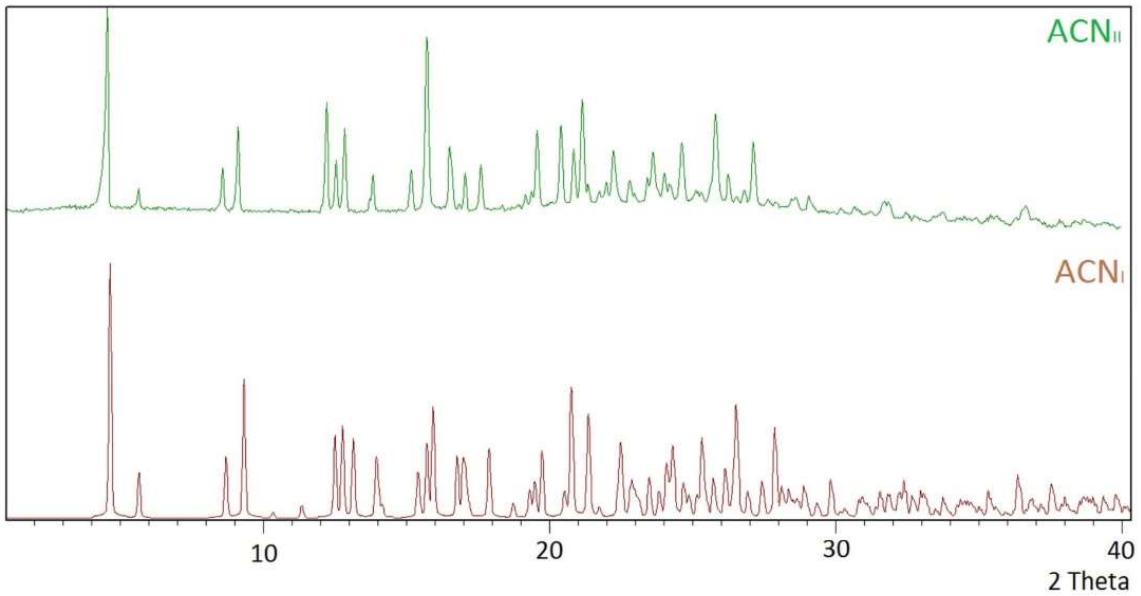


Figure S13: The XRPD of ACN solvate form II has been indexed with the following proposed orthorhombic cell: a=38.609(4) Å, b=17.041(1) Å, c=8.1786(5) Å, V=5392.6(7) Å^3 (Figures of Merit: M= 22, F= 64), a *P n c n* space group is compatible with the cell

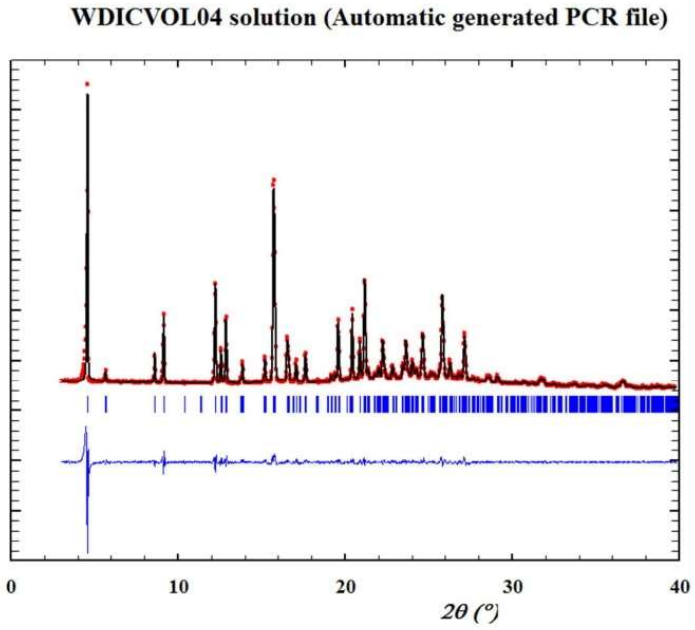
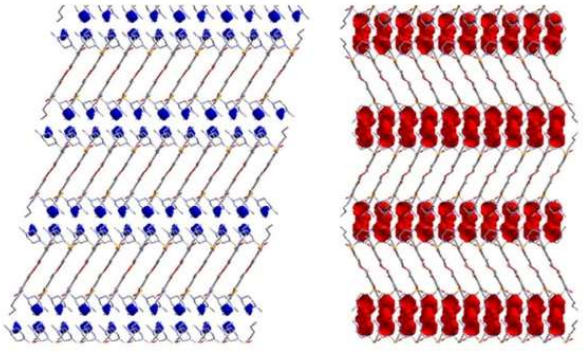


Figure S14: Representative empty spaces (voids) created in crystal unit cells

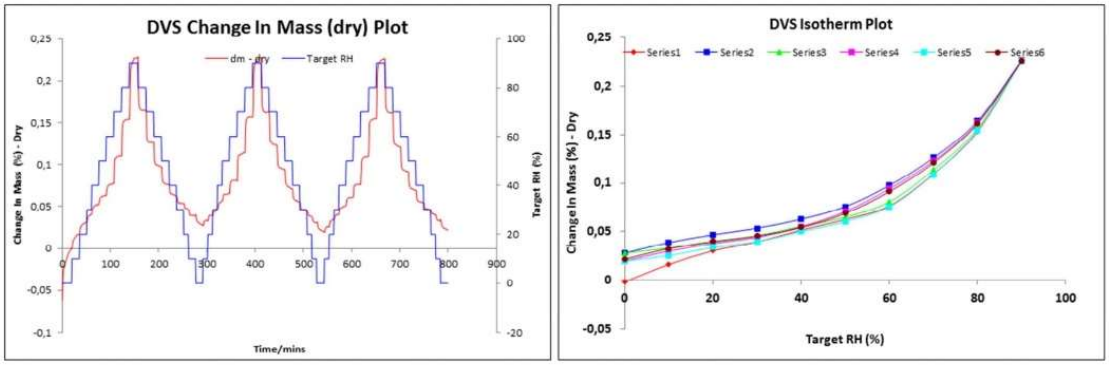


Form I Form II

Form	Probe Radius (Å)	Approx. Grid Spacing (Å)	Volume [1]	
			% of the unit cell	(Å^3)
I	0,88	0,4	0,3	3,0
II	0,88	0,4	4,6	228,83

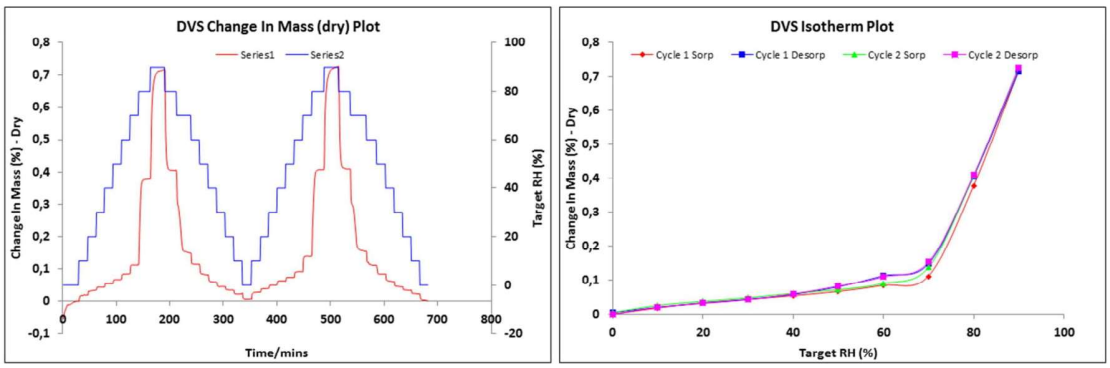
[1] Calculated using the contact surface model using Mercury

Figure S15: DVS (a) and DVS isotherm (b) of form I: Tª: 25.0 ºC; Mass constancy: 0.001%; Time limit for each step: 1440 minutes



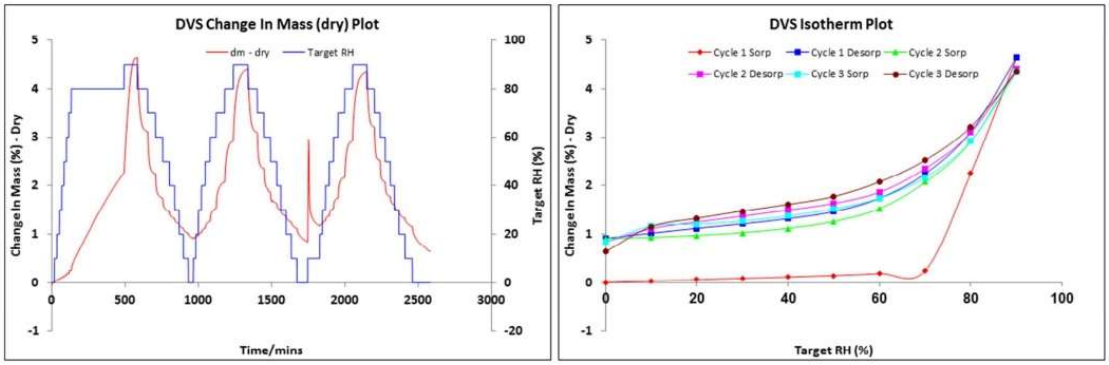
(a) (b)

Figure S16: DVS (a) and DVS isotherm (b) of form I: Tª: 41.1 ºC; Mass constancy: 0.001%; Time limit for each step: 1440 minutes



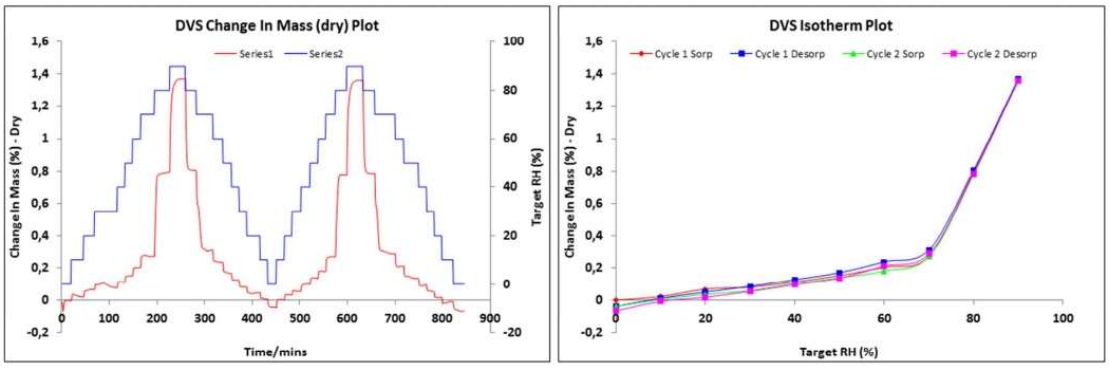
(a) (b)

Figure S17: DVS (a) and DVS isotherm (b) of form II: Tª: 25.0 ºC; Mass constancy: 0.001%; Time limit for each step: 1440 minutes



(a) (b)

Figure S18: DVS (a) and DVS isotherm (b) of form II: Tª: 41.1 ºC; Mass constancy: 0.001%; Time limit for each step: 1440 minutes



(a) (b)

Table 3. Maximum water sorption (%) in weight observed at 90% RH at different temperatures: comparative forms I and II

Form	Water sorption in weight (%)	
	25 ° C	40 ° C
I	0,23	0,73
II	4,64	1,36

APÈNDIX B. MATERIAL SUPLEMENTARI ARTICLE 2

Supporting information

Hydrogen bonding versus π-interactions: their key competition in sildenafil solvates

Crystal Engineering Communications, **2018**, 20, 4526-4530

Rafael Barbas,[1] Rafel Prohens,[1] Mercè Font-Bardia,[2]
Antonio Bauzá[3] and Antonio Frontera[3]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[3] *Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma (Baleares), Spain.*

1. Theoretical methods

The energies of all complexes included in this study were computed at the M06-2X/def2-TZVP level of theory. We have used the crystallographic coordinates for the theoretical analysis of the noncovalent interactions present in the solid state. For the calculations regarding the open and closed conformations of sildenafil we have used the BP86-D3/def2-TZVP level of theory, which includes the latest available correction for dispersion (D3).[i] The calculations have been performed by using the program TURBOMOLE version 7.0.[ii] The interaction energies were calculated with correction for the basis set superposition error (BSSE) by using the Boys–Bernardi counterpoise technique.[iii] The MEPS calculations have been performed by means of the SPARTAN software.[iv] The NCI plot is a visualization index based on the electron density and its derivatives, and enables identification and visualization of non-covalent interactions efficiently. The isosurfaces correspond to both favorable and unfavorable interactions, as differentiated by the sign of the second density Hessian eigenvalue and defined by the isosurface color. NCI analysis allows an assessment of host-guest complementarity and the extent to which weak interactions stabilize a complex. The information provided by NCI plots is essentially qualitative, i.e. which molecular regions interact. The color scheme is a red-yellow-green-blue scale with red for ρ^{+}_{cut} (repulsive) and blue for ρ^{-}_{cut} (attractive). Yellow and green surfaces correspond to weak repulsive and weak attractive interactions, respectively.[v]

2. Figure S1

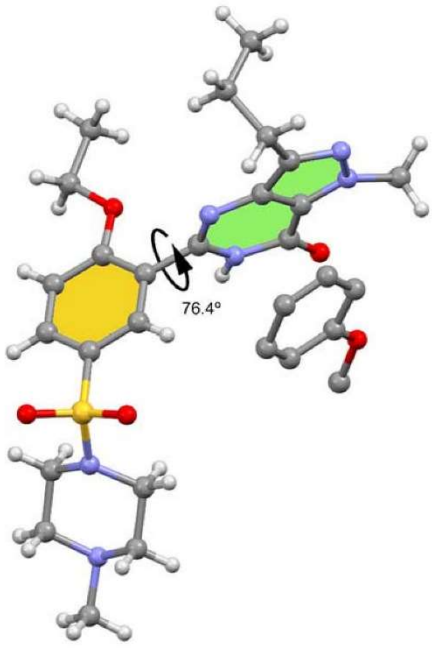


Fig. S1 X-ray structure of compound **3** with indication of the rotational angle

3. Figure S2

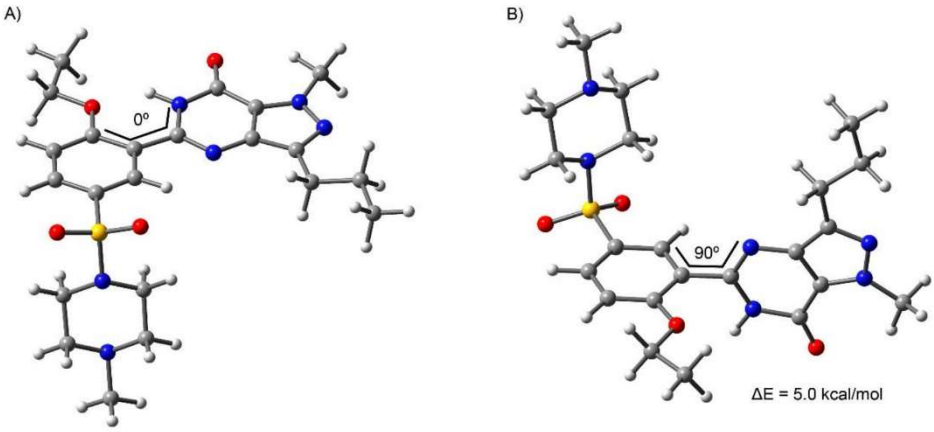


Fig. S2 Optimized open (A) and closed (B) conformations of sildenafil at the BP86-D3/def2-TZVP level of theory

3. Figure S3

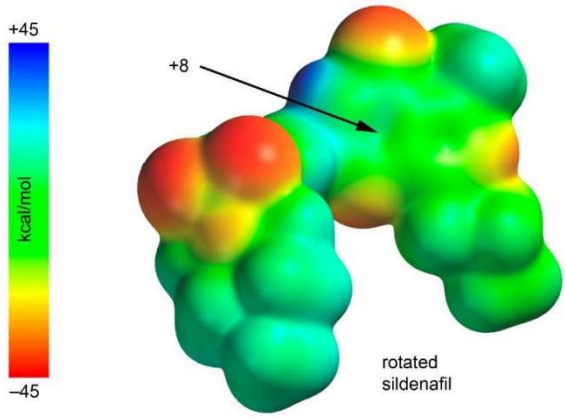


Fig. S3. MEP surface of sildenafil rotated 90 degrees.

4. Table S1. CCSD codes of sildenafil salts and/or solvates

Database Identifier	Deposition Number	salt/solvate	DOI
FEDTEO	264096	citrate monohydrate	10.1107/S1600536805002564
KAJYIG	1062242	Citrate hemihydrate	10.1039/C5CE02234G
QEGTUT	853915	none	10.5560/ZNB.2012-0073
QEKVEI	600018	saccharinate hemikis(ethanol)	10.1021/cg0601150
QEKVIM	600019	saccharinate ethanol	10.1021/cg0601150
QEKVOS	600020	saccharinate hemikis(dimethylsulfoxide)	10.1021/cg0601150
QEKVUY	600021	saccharinate nitromethane	10.1021/cg0601150
QEKWAF	600025	saccharinate hemikis(pyrrolidinone)	10.1021/cg0601150
QEKWEJ	600026	saccharinate	10.1021/cg0601150
QEKWIN	600027	saccharinate formamide	10.1021/cg0601150
QEKWOT	600028	saccharinate hemikis(1,4-dioxane)	10.1021/cg0601150
QEKWUZ	600029	saccharinate hemikis(ethylene glycol)	10.1021/cg0601150
QEMLEA	600022	saccharinate hemikis(dimethylformamide)	10.1021/cg0601150
QEMLIE	600023	saccharinate acetonitrile	10.1021/cg0601150
QEMLOK	600024	saccharinate dihydrate	10.1021/cg0601150
WOYHAV	990216	salicylate	10.1016/j.mencom.2015.01.018
YAJHEZ	1484239	thiosaccharinate	10.1021/acs.cgd.6b01669
YIWWIM	956673	hemikis(oxalate)	10.1021/mp400516b
YIWWOS	956674	hydrogenfumarate trihydrate	10.1021/mp400516b
YIWWUY	956675	hemikis(succinate) monohydrate	10.1021/mp400516b
YIWXAF	956676	hemikis(glutarate)	10.1021/mp400516b
YIWXEJ	956677	adipic acid solvate	10.1021/mp400516b
YIWXIN	956678	pimelic acid solvate	10.1021/mp400516b
YIWXOT	956679	suberic acid solvate	10.1021/mp400516b
YIWXUZ	956680	sebecic acid solvate	10.1021/mp400516b

5. Experimental methods

5.1. Materials and measurements.

Sildenafil used was of reagent grade and used as received from Polpharma (form I). Chloroform solvate (solvate 1) has been obtained by slow crystallization in chloroform after 5 days at 25 °C. Toluene solvate (solvate 2) has been obtained by crystallization in toluene after 1 day at 25 ºC. Anisole solvate (solvate 3) has been obtained by slow crystallization in anisole after 25 days at 25 °C. Dioxane solvate (solvate 4) has been obtained by slow crystallization in a mixture dioxane-acn (equimolar ratio) after 21 days at 25 °C

5.2. X-ray crystallographic analysis.

Single crystal X-ray diffraction intensity data of Sildenafil form I and acetonitrile solvate form I were collected using a D8 Venture system equipped with a multilayer monochromator and a Mo microfocus (λ = 0.71073 Å). Frames were integrated with the Bruker SAINT software package using a SAINT algorithm. Data were corrected for absorption effects using the multi-scan method (SADABS). [vi] The structure was solved and refined using the Bruker SHELXTL Software Package, a computer program for automatic solution of crystal structures and refined by full-matrix least-squares method with ShelXle Version 4.8.0, a Qt graphical user interface for SHELXL computer program. [vii] Powder X-ray diffraction patterns of form II were obtained on a PANalytical X'Pert PRO MPD diffractometer in transmission configuration using Cu Kα1+2 radiation (λ = 1.5406 Å) with a focalizing elliptic mirror and a PIXcel detector working at a maximum detector's active length of 3.347°. Configuration of convergent beam with a focalizing mirror and a transmission geometry with flat samples sandwiched between low absorbing films measuring from 2 to 40° in 2θ, with a step size of 0.026° and a total measuring time of 30 minutes.

5.3 Differential Scanning Calorimetry (DSC). Differential scanning calorimetry analysis were carried out by means of a Mettler-Toledo DSC-822e calorimeter. Experimental conditions: aluminium crucibles of 40 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, heating rate of 10°C/min. The calorimeter was calibrated with indium of 99.99% purity.

5.4 Thermogravimetric Analysis (TGA). Thermogravimetric analyses were performed on a Mettler-Toledo TGA-851e thermobalance. Experimental conditions: alumina crucibles of 70 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, heating rate of 10°C/min.

5.5 List of solvents used in the solid forms screening. Methanol, ethanol, IPA, butanol, 1-propanediaol, glycerol, ethylene glycol, 2-methoxyethanol, 1-propanol, 1-pentanol, 1-octanol, 2,2,2-trifluoroethanol, benzyl alcohol, ACN, propionitrile, MEK, acetone, MiBK, water, DMF, DMSO, pentane, heptane, cyclohexane, hexane, methylcyclohexane, toluene, xylene, mesitylene, anisole, 2-nitrotoluene, nitrobenzene, AcOEt, isopropyl acetate, diethylether, THF, 1-methyl-2-pyrrolidone, dimethyl ethylene glycol, diisopropyl ether, dioxane, iodomethane, dichloromethane, 1,2-dichlorothane, chloroform, 1,1,1-trichloroethane, 1,1,2-trichloroethane, formic acid, acetic acid, trifluoroacetic acid, propanoic acid, NH3 (32%) in water, diethylamine, trimethylamine and pyridine.

6.- Crystal data and structure refinement

6.1 Chloroform solvate (solvate 1) (mo_023WB13A_0ma_a)

Table S2. Crystal data and structure refinement for mo_023WB13A_0ma_a.

Identification code	mo_023WB13A_0ma_a	
Empirical formula	C23 H31 Cl3 N6 O4 S	
Formula weight	593.95	
Temperature	301(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P b c a	
Unit cell dimensions	a = 16.3399(7) Å	α= 90°.
	b = 8.5767(3) Å	β= 90°.
	c = 40.1148(16) Å	γ = 90°.
Volume	5621.8(4) $Å^3$	
Z	8	
Density (calculated)	1.403 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.441 mm^{-1}	
F(000)	2480	
Crystal size	0.303 x 0.184 x 0.124 mm^3	
Theta range for data collection	2.383 to 26.466°.	
Index ranges	-20<=h<=17, -10<=k<=10, -46<=l<=50	
Reflections collected	35024	
Independent reflections	5787 [R(int) = 0.0421]	
Completeness to theta = 25.242°	99.8 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7454 and 0.6894	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	5787 / 0 / 338	
Goodness-of-fit on F^2	1.026	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0661, wR2 = 0.1718	
R indices (all data)	R1 = 0.1117, wR2 = 0.1981	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.678 and -0.634 $e.Å^{-3}$	

6.2 Toluene solvate (solvate 2) (mo_023UB111_0ma_aa)

Table S3. Crystal data and structure refinement for mo_023UB111_0ma_aa.

Identification code	mo_023ub111_0ma_aa	
Empirical formula	C51 H68 N12 O8 S2	
Formula weight	1041.29	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/c	
Unit cell dimensions	a = 14.8287(6) Å	α= 90°.
	b = 14.3781(6) Å	β= 106.4830(10)°.
	c = 12.7277(5) Å	γ = 90°.
Volume	2602.13(18) $Å^3$	
Z	2	
Density (calculated)	1.329 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.169 mm^{-1}	
F(000)	1108	
Crystal size	0.666 x 0.106 x 0.092 mm^3	
Theta range for data collection	2.189 to 28.728°.	
Index ranges	-18<=h<=20, -19<=k<=19, -17<=l<=16	
Reflections collected	59166	
Independent reflections	6727 [R(int) = 0.0416]	
Completeness to theta = 25.242°	99.7 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7458 and 0.6943	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	6727 / 0 / 322	
Goodness-of-fit on F^2	1.044	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0339, wR2 = 0.0949	
R indices (all data)	R1 = 0.0415, wR2 = 0.09941	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	1.364 and -1.000 $e.Å^{-3}$	

6.3 Anisole solvate (solvate 3) (mo_023UB122_0ma_aa)

Table S4. Crystal data and structure refinement for mo_023UB122_0ma_aa.

Identification code	mo_023ub122_0ma_aa	
Empirical formula	C51 H68 N12 O9 S2	
Formula weight	1057.29	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/c	
Unit cell dimensions	a = 14.8822(7) Å	α= 90°.
	b = 14.2697(7) Å	β= 106.409(2)°.
	c = 12.8142(6) Å	γ = 90°.
Volume	2610.4(2) $Å^3$	
Z	2	
Density (calculated)	1.345 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.170 mm^{-1}	
F(000)	1124	
Crystal size	0.435 x 0.116 x 0.096 mm^3	
Theta range for data collection	2.018 to 30.560°.	
Index ranges	-21<=h<=21, -20<=k<=20, -16<=l<=18	
Reflections collected	95257	
Independent reflections	8010 [R(int) = 0.0385]	
Completeness to theta = 25.242°	99.9 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7461 and 0.7218	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	8010 / 0 / 323	
Goodness-of-fit on F^2	1.037	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0585, wR2 = 0.1644	
R indices (all data)	R1 = 0.0658, wR2 = 0.1704	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	2.299 and -2.520 $e.Å^{-3}$	

6.4 Dioxane solvate (solvate 4) (mo_023WB33_0ma_a)

Table S5. Crystal data and structure refinement for mo_023WB33_0ma_a.

Identification code	mo_023WB33_0ma_a	
Empirical formula	C24 H34 N6 O5 S	
Formula weight	518.63	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/c	
Unit cell dimensions	a = 15.6055(5) Å	α= 90°.
	b = 13.5523(4) Å	β= 106.3620(10)°.
	c = 12.5064(4) Å	γ = 90°.
Volume	2537.86(14) $Å^3$	
Z	4	
Density (calculated)	1.357 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.175 mm^{-1}	
F(000)	1104	
Crystal size	0.227 x 0.057 x 0.039 mm^3	
Theta range for data collection	2.267 to 26.780°.	
Index ranges	-19<=h<=19, -17<=k<=17, -14<=l<=15	
Reflections collected	27836	
Independent reflections	5382 [R(int) = 0.0542]	
Completeness to theta = 25.242°	99.4 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7454 and 0.6929	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	5382 / 0 / 333	
Goodness-of-fit on F^2	0.999	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0405, wR2 = 0.0955	
R indices (all data)	R1 = 0.0661, wR2 = 0.1181	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.318 and -0.489 $e.Å^{-3}$	

Table S6. NH···N Hydrogen bonds for solvates **2**-**4** [Å and °].

Solvate	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
2(i)	0.95(2)	1.95(2)	2.889(1)	174(2)
3(i)	0.88	2.06	2.934(2)	177
4(ii)	0.94(3)	1.95(3)	2.892(2)	176(2)

(i)[x,3/2-y,1/2+z] ; (ii) [x,1/2-y,1/2+z]

7.- Characterization of the solids

Figure S3: DSC of solvate 2 at 10 °C/min (toluene solvate)

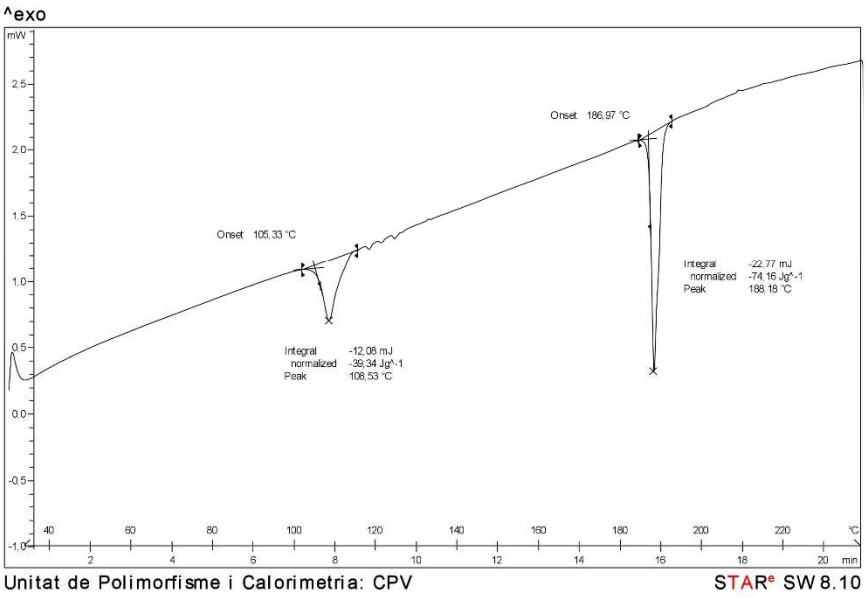


Figure S4: TGA of solvate 2 at 10 °C/min (toluene solvate)

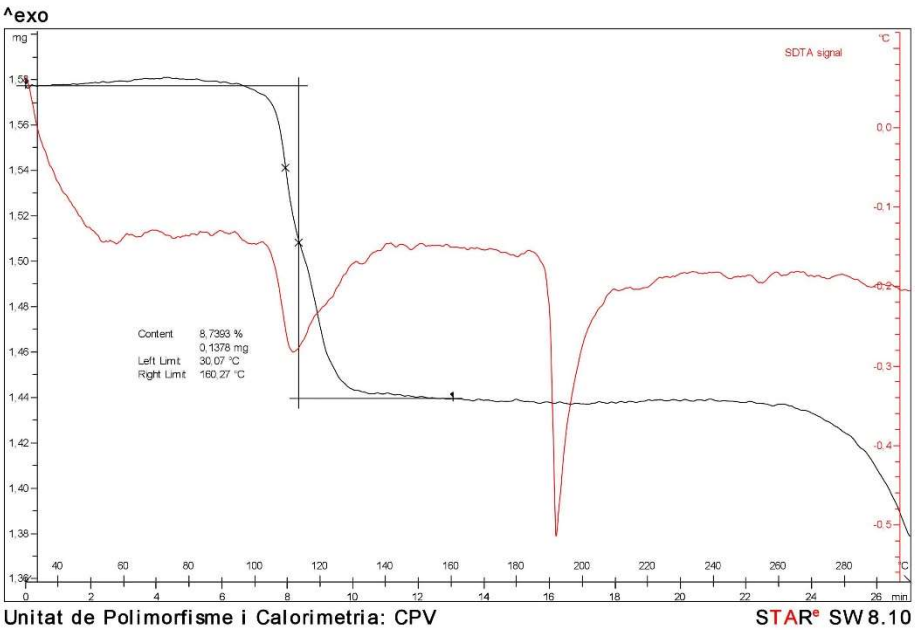


Figure S5: DSC of solvate 3 at 10 °C/min (anisole solvate)

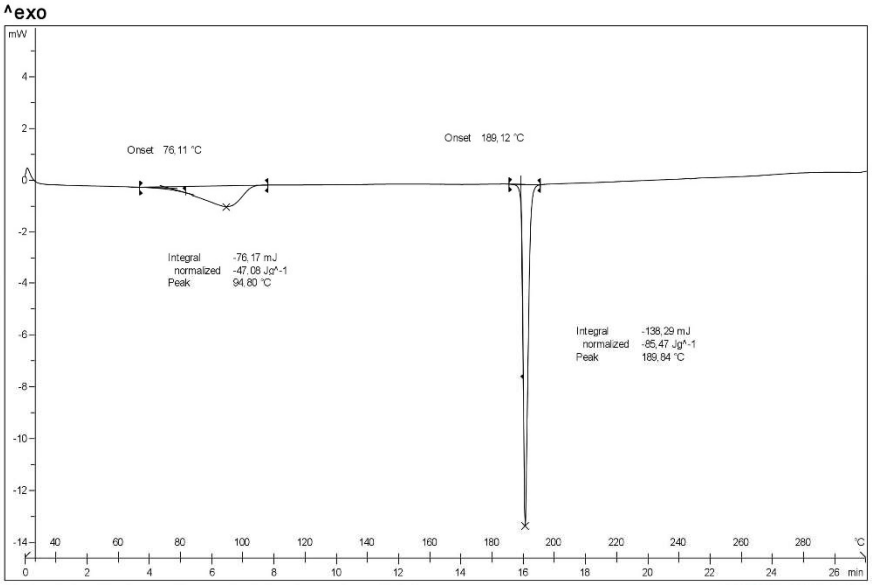


Figure S6: TGA of solvate 3 at 10 °C/min (anisole solvate)

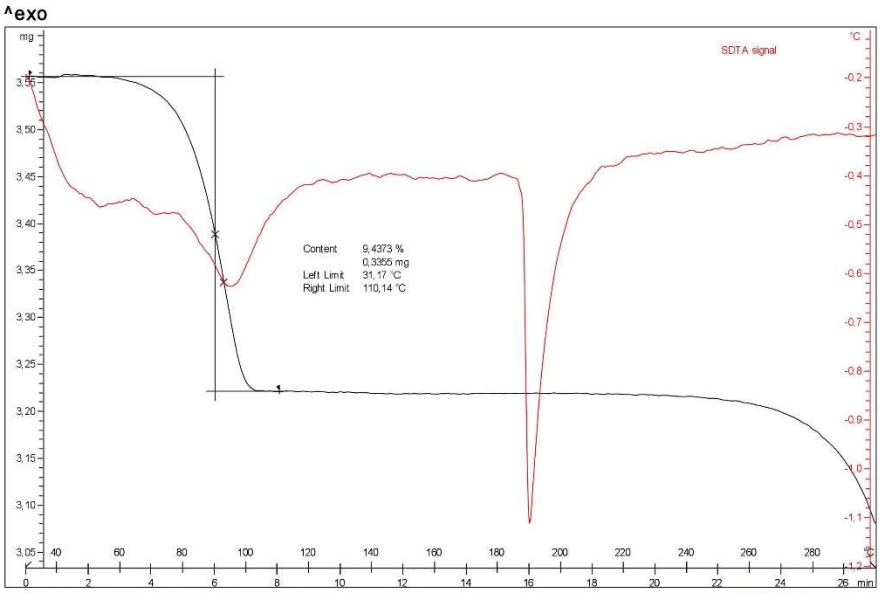


Figure S7: DSC of solvate 4 at 10 °C/min (dioxane solvate)

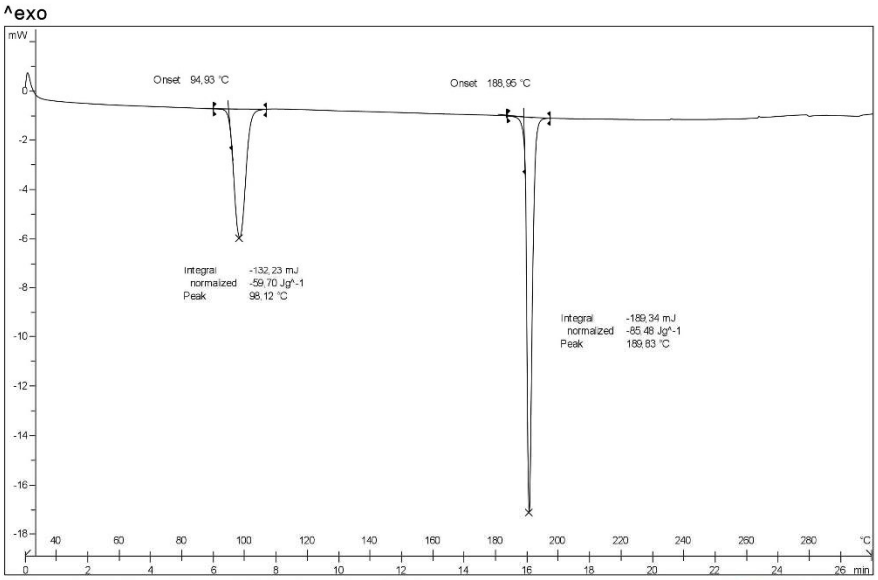


Figure S8: TGA of solvate 4 at 10 °C/min (dioxane solvate)

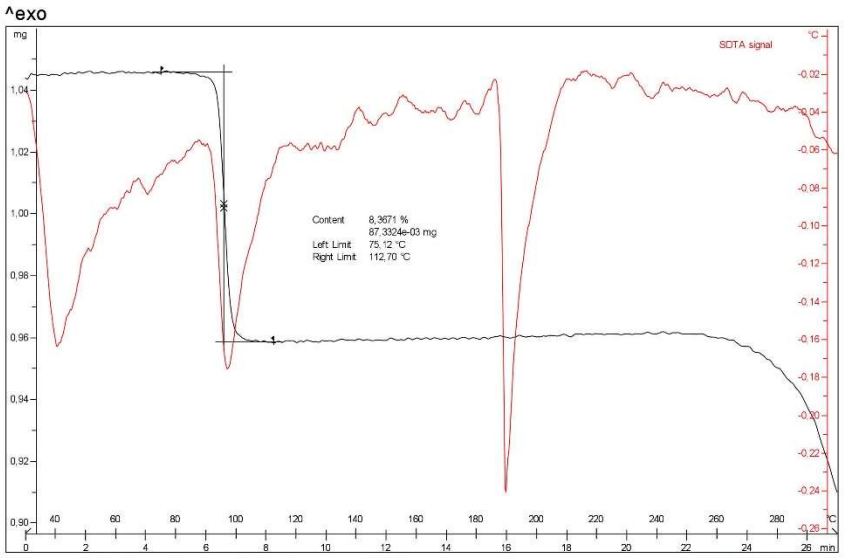
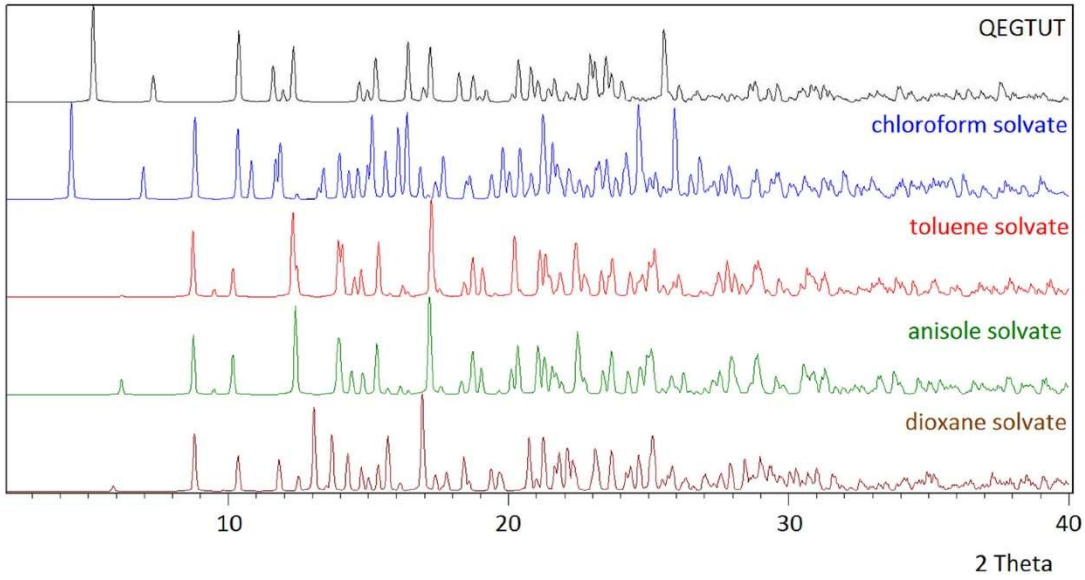


Figure S9: Comparison of the simulated PXRD of different solvates from 2 to 40 2θ



8.- References

[i] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, and H. Krieg, *J. Chem. Phys.*, 2010, **132**, 154104–19.

[ii] R. Ahlrichs, M. Bär, M. Hacer, H. Horn and C. Kömel, *Chem. Phys. Lett.*, 1989, **162**, 165–169.

[iii] S. B. Boys and F. Bernardi, *Mol. Phys.*, 1970, **19**, 553–566.

[iv] Y. Shao, L.F. Molnar, Y. Jung, J. Kussmann, C. Ochsenfeld, S.T. Brown, A.T.B. Gilbert, L.V. Slipchenko, S.V. Levchenko, D.P. O'Neill, R.A. DiStasio Jr., R.C. Lochan, T. Wang, G.J.O. Beran, N.A. Besley, J.M. Herbert, C.Y. Lin, T. Van Voorhis, S.H. Chien, A. Sodt, R.P. Steele, V.A. Rassolov, P.E. Maslen, P.P. Korambath, R.D. Adamson, B. Austin, J. Baker, E.F.C. Byrd, H. Dachsel, R.J. Doerksen, A. Dreuw, B.D. Dunietz, A.D. Dutoi, T.R. Furlani, S.R. Gwaltney, A. Heyden, S. Hirata, C-P. Hsu, G. Kedziora, R.Z. Khalliulin, P. Klunzinger, A.M. Lee, M.S. Lee, W.Z. Liang, I. Lotan, N. Nair, B. Peters, E.I. Proynov, P.A. Pieniazek, Y.M. Rhee, J. Ritchie, E. Rosta, C.D. Sherrill, A.C. Simmonett, J.E. Subotnik, H.L. Woodcock III, W. Zhang, A.T. Bell, A.K. Chakraborty, D.M. Chipman, F.J. Keil, A.Warshel, W.J. Hehre, H.F. Schaefer, J. Kong, A.I. Krylov, P.M.W. Gill and M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, **8**, 3172–3191.

[v] J. Contreras-García, E. R. Johnson, S. Keinan, R. Chaudret, J-P.Piquemal, D. N. Beratan and W. Yang *J. Chem. Theory and Comput.*, 2011, **7**, 625–632.

[vi] SADABS Bruker AXS; Madison, Wisconsin, USA, 2004; SAINT, Software Users Guide, Version 6.0; Bruker Analytical X–ray Systems, Madison, WI, 1999. Sheldrick, G. M. SADABS v2.03: Area–Detector Absorption Correction. University of Göttingen, Germany, 1999; Saint Version 7.60A (Bruker AXS 2008); SADABS V. 2008–1 (2008).

[vii] Sheldrick, G. M. Acta Cryst. 2008, A64, 112–122.

APÈNDIX C. MATERIAL SUPLEMENTARI ARTICLE 3

Supporting information

Combined Virtual/Experimental Multicomponent Solid Forms Screening of Sildenafil: New Salts, Cocrystals, and Hybrid Salt-Cocrystals

Crystal Growth & Design, **2018**, 18, 7618-7627

Rafael Barbas,[1] Mercè Font-Bardia,[2] Anant Paradkar,[3]
Christopher A. Hunter[4] and Rafel Prohens[1,5]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[3] *Centre for Pharmaceutical Engineering Science, School of Pharmacy, University of Bradford, Bradford, U.K.*

[4] *Department of Chemistry, University of Cambridge, Cambridge, U.K.*

[5] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain.*

1. Synthesis of the different crystal forms

Details of synthesis and characterization of each form can be found at Table S1. Stoichiometry has been assessed based on NMR and TGA measurements when crystal structure is not available. In those cases where crystal structure has not been solved the definition of the form as a salt or a cocrystal has been done based on the probability of proton transfer.

1.1 Quercetin cocrystal (1:1) isopropanol solvate (SIL-QUE I). It was obtained by reaction crystallization in IPA, (m.p. 140 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.2 Quercetin cocrystal (1:1) tetrahydrofuran solvate (SIL-QUE II). It was obtained by solvent mediated transformation in THF, (m.p. 143 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.3 3,4-dihydroxybenzoic acid salt (1:1) isopropanol solvate (SIL-3,4-DHBA I). It was obtained by solvent mediated transformation in IPA, (m.p 105 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.4 3,4-Dihydroxybenzoic acid hybrid salt-cocrystal (1:2) acetonitrile solvate (SIL-3,4-DHBA II). It was obtained by slow evaporation in ACN at 25 ºC, (3 days).

1.5 3,4-Dihydroxybenzoic acid hybrid salt-cocrystal (1:2) acetonitrile solvate (SIL-3,4-DHBA III). It was obtained by solvent mediated transformation in acetonitrile, (m.p 99 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.6 3,4-Dihydroxybenzoic acid hybrid salt-cocrystal (2:3) dihydrate (SIL-3,4-DHBA IV). It was obtained by slow evaporation in IPA at 25 ºC, (3 days).

1.7 Resorcinol cocrystal (1:1) (SIL-RES I). It was obtained by solvent mediated transformation in IPA, (m.p 117 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.8 Resorcinol cocrystal (1:2) (SIL-RES II). It was obtained by solvent mediated transformation in xylene, (m.p 152 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.9 Tartaric acid salt (1:1) (SIL-TAR I). It was obtained by liquid assisted grinding in IPA. Its PXRD diagram has been indexed.

1.10 Tartaric acid salt (2:1) (SIL-TAR II). It was obtained by solvent mediated transformation in THF, (m.p 152 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.11 Tartaric acid salt (1:1) isopropanol solvate (SIL-TAR III). It was obtained by solvent mediated transformation in IPA, (m.p 229 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.12 Tartaric acid salt (2:1) isopropanol solvate (SIL-TAR IV). It was obtained by slow evaporation in IPA/THF at 25 ºC, (3 days).

1.13 Caffeic acid salt (2:3) monohydrate (SIL-CAF I). It was obtained by solvent mediated transformation in ACN, (m.p. 165 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.14 Caffeic acid salt (2:3) (SIL-CAF II). It was obtained by heating SIL-CAF I at 100 ºC under N2 atmosphere, (m.p. 164 ºC).

1.15 Methyl gallate cocrystal (1:1) (SIL-MEG). It was obtained by reaction crystallization in ACN, (m.p. 135 ºC). Its PXRD diagram has been indexed.

1.16 3-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) acetonitrile solvate (SIL-3-HBA I). It was obtained by reaction crystallization in ACN, (m.p. 161 ºC).

1.17 3-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) tetrahydrofuran solvate sesquihydrate (SIL-3-HBA II). It was obtained by slow evaporation in THF at 25 ºC, (53 days).

1.18 3-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) (SIL-3-HBA III). It was obtained by solvent mediated transformation in IPA, (m.p. 156 ºC).

1.19 3-Hydroxybenzoic acid hybrid salt-cocrystal (2:3) dihydrate (SIL-3-HBA IV). It was obtained by slow evaporation in ACN at 25 ºC, (51 days).

1.20 4-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) (SIL-4-HBA I). It was obtained by liquid assisted grinding in ACN.

1.21 4-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) (SIL-4-HBA II) hemiisopropanol solvate. It was obtained by reaction crystallization in IPA, (m. p. 136 ºC).

1.22 4-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) (SIL-4-HBA III). It was obtained by reaction crystallization in ACN, (m. p. 107 ºC).

1.23 4-Hydroxybenzoic acid salt (1:1) tetrahydrofuran solvate (SIL-4-HBA IV). It was obtained by solvent mediated transformation in THF, (m.p. 130ºC).

Table S1. Synthesis of the different crystal forms

Crystal form	SIL (mg)	Coformer (mg)	Solvents (mL)	T (ºC)	Cocrystal screeening	Time (day)	Crystal form	TGA (%)	molar ratio[a]
SIL-QUE I	55	35	IPA (2.8)	25	RC, cofomer saturated	1	cc	7.16	(1:1:1)
SIL-QUE II	55	35	THF(0.1)	25	SMT	1	cc	4.93	(1:1:¾)
SIL-3,4-DHBA I	38	20	IPA (0.3)	25	SMT	1	salt	3.71	(1:1:½)
SIL-3,4-DHBA II	10	5	ACN(3.0)	70	Slow evaporation	3	hybrid salt-cc	-	(1:2:2)
SIL-3,4-DHBA III	55	37	ACN (1.0)	25	SMT	5	hybrid salt-cc	5.26	(1:2:1)
SIL-3,4-DHBA IV	10	4	IPA (0.5)	70	Slow evaporation	3	Hybrid salt-cc	-	(2:3:2)
SIL-RES I	100	56	ACN (0.3)	25	SMT	1	cc	-	(1:1)
SIL-RES II	163	76	Xylene (2.0)	25	SMT	4	cc	-	(1:2)
SIL-TAR I	20	6.3	IPA (1 drop)	25	LAG	-	salt	-	(1:1)
SIL-TAR II	60	20	THF (1.0)	25	SMT	1	salt	-	(2:1)
SIL-TAR III	151	57	IPA (0.5)	25	SMT	1	salt	4.14	(1:1:½)
SIL-TAR IV	10 (SIL-TAR I)		IPA/THF (2.0/1.0)	70	Slow evaporation	3	salt	-	(2:1:1)
SIL-CAF I	44	20	ACN (2.0)	25	SMT	1	cc	1.98	(2:3:1)
SIL-CAF II	SIL-CAF I was heated until 100 ºC						cc	-	(2:3)
SIL-MEG	53	40	ACN (1.0)	25	RC	1	cc	-	(1:1)
SIL-3-HBA I	60	20	ACN (0.4)	25	RC	1	salt	1.26	(1:1:¼)
SIL-3 HBA II	24 (SIL-3-HBA I)		THF (0.2)	70	Slow evaporation	53	salt	-	(2:2:1:$^3/_2$)
SIL-3-HBA III	776	342	IPA (2.0)	25	SMT	3	salt	-	(1:1)
SIL-3-HBA IV	24 (SIL-3-HBA I)		ACN (1.0)	70	Slow evaporation	51	hybrid salt-cc	-	(2:3:2)
SIL-4-HBA I	20	5.8	ACN (1 drop)	25	LAG	-	salt	-	(1:1)
SIL-4-HBA II	62	20	IPA (0.4)	25	RC	1	salt	7.34	(1:1:½)
SIL-4-HBA III	63	20	ACN (0.4)	25	RC	1	salt	-	(1:1)
SIL-4-HBA IV	60	50	THF (0.05)	25	SMT	1	salt	3.16	(1:1:¼)

[a] Molar ratio according to SXRD, ^{1}H-NMR and TGA analysis

2.- Crystal data and structure refinement

2.1 Sildenafil:3,4-dihydroxybenzoic acid (SIL-3,4-DHAB II) (mo_023UB22_0m_a)

Table S2. Crystal data and structure refinement for mo_023UB22_0m_a.

Identification code	mo_023UB22_0m_a	
Empirical formula	C40 H48 N8 O12 S	
Formula weight	864.92	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/n	
Unit cell dimensions	a = 11.6418(8) Å	α= 90°.
	b = 15.3849(13) Å	β= 102.749(3)°.
	c = 24.7913(19) Å	γ = 90°.
Volume	4330.8(6) $Å^3$	
Z	4	
Density (calculated)	1.327 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.145 mm^{-1}	
F(000)	1824	
Crystal size	0.358 x 0.196 x 0.074 mm^3	
Theta range for data collection	2.143 to 26.413°.	
Index ranges	-14<=h<=12, -19<=k<=19, -31<=l<=31	
Reflections collected	66326	
Independent reflections	8875 [R(int) = 0.0949]	
Completeness to theta = 25.242°	99.9 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7454 and 0.6288	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	8875 / 0 / 570	
Goodness-of-fit on F^2	1.070	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0537, wR2 = 0.1151	
R indices (all data)	R1 = 0.0831, wR2 = 0.1271	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.534 and -0.520 e.$Å^{-3}$	

Table S3. Hydrogen bonds for mo_023UB22_0m_a.

Typ	Res	Donor --- H	....Acceptor	[ARU]	D - H	H...A	D...A	D - H...A
		N(2) --H(2)	..O(9)	[ ]	1.00	1.74	2.716(2)	165
Intra		N(3) --H(3N)	..O(3)	[ ]	0.84(2)	1.93(2)	2.636(3)	141(2)
		O(6) --H(6)	..O(9)	[3/2-x,1/2+y,1/2-z]	0.92(3)	1.67(3)	2.591(2)	174(3)
		O(7) --H(7A)	..O(10)	[1/2-x,1/2+y,1/2-z]	0.88(3)	1.76(3)	2.617(2)	168(2)
		O(8) --H(8A)	..O(4)	[1-x,1-y,1-z]	0.84(2)	1.89(2)	2.720(2)	169(2)
Intra		O(11) --H(11A)	..O(12)	[ ]	0.85(2)	2.22(2)	2.679(3)	114.4(17)
		O(11) --H(11A)	..O(8)	[1-x,1-y,1-z]	0.85(2)	2.27(2)	2.999(3)	144(2)
		O(12) --H(12)	..N(8)	[ ]	0.89(3)	1.93(3)	2.815(3)	173(3)

2.2 Sildenafil:3,4-dihydroxybenzoic acid (SIL-3,4-DHAB IV) (mo_023UB41A_0m_b2)

Table S4. Crystal data and structure refinement for mo_023UB41_0m_b2.

Identification code	mo_023UB41_0m_b2	
Empirical formula	C65 H82 N12 O22 S2	
Formula weight	1447.54	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/c	
Unit cell dimensions	a = 17.6070(17) Å	α= 90°.
	b = 8.6938(8) Å	β= 117.101(5)°.
	c = 24.942(2) Å	γ = 90°.
Volume	3398.7(5) Å^3	
Z	2	
Density (calculated)	1.414 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.166 mm^{-1}	
F(000)	1528	
Crystal size	0.324 x 0.152 x 0.112 mm^3	
Theta range for data collection	2.403 to 27.585°.	
Index ranges	-22<=h<=22, -11<=k<=11, -32<=l<=32	
Reflections collected	69444	
Independent reflections	7838 [R(int) = 0.0722]	
Completeness to theta = 25.242°	99.9 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7456 and 0.6698	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	7838 / 2 / 460	
Goodness-of-fit on F^2	1.024	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0476, wR2 = 0.1084	
R indices (all data)	R1 = 0.0719, wR2 = 0.1211	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.695 and -0.697 e.Å^{-3}	

Table S5. Hydrogen bonds for mo_023UB41_0m_b2 [Å and °].

D-H...A		d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
Intra	O3C --H3CA ..O4C [ ]	0.82	2.22	2.648(4)	113
	O3C --H3CA ..O6 [-x,-1/2+y,1/2-z]	0.82	1.91	2.657(4)	151
	O1C --H1C ..O6 [x,5/2-y,-1/2+z]	0.82	1.76	2.555(3)	163
	N2 --H2 ..O5 [1+x,-1+y,z]	0.98	1.74	2.713(2)	174
	N2 --H2 ..O6 [1+x,-1+y,z]	0.98	2.44	3.097(3)	124
	O4C --H4CA ..O6 [x,3/2-y,-1/2+z]	0.82	2.35	2.688(3)	106
	O1W --H1OA ..N5 [x,1/2-y,1/2+z]	0.86(3)	2.13(3)	2.982(2)	175(3)
Intra	N3 --H3N ..O4 [ ]	0.86(3)	1.89(3)	2.605(2)	139(3)
	O1W --H1OB ..O5 [-x,-1/2+y,1/2-z]	0.87(3)	2.02(3)	2.853(2)	161(3)
	O7 --H70 ..O1W [ ]	1.00(2)	1.81(2)	2.730(3)	152.2(18)
Intra	O7 --H70 ..O8 [ ]	1.00(2)	2.217(17)	2.718(2)	109.7(15)
	O8 --H80 ..O3C [ ]	0.90(3)	1.88(3)	2.763(3)	168(2)
	O8 --H80 ..O2C [-x,2-y,-z]	0.90(3)	1.92(3)	2.811(3)	169(2)

2.3 Sildenafil:tartaric acid (SIL-TAR IV) (mo_023UB46A_0m_b1a)

Table S6. Crystal data and structure refinement for mo_023UB46_0m_b1a.

Identification code	mo_023ub46_0m_b1a	
Empirical formula	C51 H74 N12 O15 S2	
Formula weight	1159.34	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P -1	
Unit cell dimensions	a = 6.3796(8) Å	α= 108.607(5)°.
	b = 13.4449(18) Å	β= 98.363(6)°.
	c = 17.620(2) Å	γ = 92.814(6)°.
Volume	1409.7(3) $Å^3$	
Z	1	
Density (calculated)	1.366 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.172 mm^{-1}	
F(000)	616	
Crystal size	0.334 x 0.144 x 0.044 mm^3	
Theta range for data collection	2.466 to 27.672°.	
Index ranges	-8<=h<=8, -17<=k<=17, -22<=l<=22	
Reflections collected	53107	
Independent reflections	6455 [R(int) = 0.1123]	
Completeness to theta = 25.242°	99.7 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7455 and 0.6302	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	6455 / 8 / 396	
Goodness-of-fit on F^2	1.105	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0678, wR2 = 0.1740	
R indices (all data)	R1 = 0.1394, wR2 = 0.1920	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.608 and -0.412 $e.Å^{-3}$	

Table S7. Hydrogen bonds for mo_023UB46_0m_b1a [Å and °].

Typ	Donor	---	H	....Acceptor	[ARU]	D - H	H...A	D...A	D - H...A
	*O1W	--H1W		..O4	[ ]	0.82	1.98	2.797(8)	179
	N2	--H2		..O5	[1-x,1-y,1-z]	0.98	1.70	2.633(7)	158
Intra	N3	--H3N		..O3	[ ]	0.91(4)	1.89(4)	2.628(4)	136(3)
Intra	O7	--H7O		..O6	[ ]	0.82	2.24	2.663(8)	112

2.4 Sildenafil:3-hydroxybenzoic acid (SIL-3-HBA II) (mo_023TB225A_0m_a)

Table S8. Crystal data and structure refinement for mo_023TB225_0m_a.

Identification code	mo_023TB225_0m_a	
Empirical formula	C31 H43 N6 O9 S	
Formula weight	675.77	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/n	
Unit cell dimensions	a = 17.7205(18) Å	α= 90°.
	b = 8.2574(7) Å	β= 102.748(3)°.
	c = 22.991(2) Å	γ = 90°.
Volume	3281.2(5) $Å^3$	
Z	4	
Density (calculated)	1.368 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.162 mm^{-1}	
F(000)	1436	
Crystal size	0.129 x 0.119 x 0.109 mm^3	
Theta range for data collection	2.629 to 23.021°.	
Index ranges	-19<=h<=19, -9<=k<=9, -24<=l<=25	
Reflections collected	18923	
Independent reflections	4567 [R(int) = 0.0822]	
Completeness to theta = 25.242°	76.9 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7449 and 0.6039	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	4567 / 6 / 454	
Goodness-of-fit on F^2	1.017	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0504, wR2 = 0.1168	
R indices (all data)	R1 = 0.0883, wR2 = 0.1368	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	1.159 and -0.868 $e.Å^{-3}$	

Table S9. Hydrogen bonds for mo_023TB225_0m_a [Å and °].

Typ	Donor	---	H	....Acceptor	[ARU]	D - H	H...A	D...A	D - H...A
	O1W	--H1WA		..O6	[3/2-x,-1/2+y,1/2-z]	0.84(4)	1.93(4)	2.760(4)	170(4)
	O1W	--H1WB		..N6	[1/2+x,1/2-y,-1/2+z]	0.83(4)	2.02(4)	2.847(4)	171(4)
	N2	--H2N		..O5	[ ]	1.00	2.48	3.115(11)	121
	N2	--H2N		..O5'	[ ]	1.00	2.53	3.173(11)	121
	N2	--H2N		..O6	[ ]	1.00	1.68	2.684(4)	178
Intra	N4	--H4N		..O4	[ ]	0.88	1.86	2.594(4)	139
	O7	--H7A		..O1W	[ ]	0.89(5)	1.79(5)	2.668(4)	173(4)

2.5 Sildenafil:3-hydroxybenzoic acid (SIL-3-HBA IV) (mo_023UB26_0m_a)

Table S10. Crystal data and structure refinement for mo_023UB26_0m_a.

Identification code	mo_023UB26_0m_a	
Empirical formula	C65 H82 N12 O19 S2	
Formula weight	1399.54	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/n	
Unit cell dimensions	a = 17.5329(10) Å	α= 90°.
	b = 8.6545(4) Å	β= 105.591(2)°.
	c = 22.9653(13) Å	γ = 90°.
Volume	3356.5(3) $Å^3$	
Z	2	
Density (calculated)	1.385 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.162 mm^{-1}	
F(000)	1480	
Crystal size	0.336 x 0.197 x 0.086 mm^3	
Theta range for data collection	2.412 to 24.767°.	
Index ranges	-20<=h<=20, -10<=k<=10, -27<=l<=26	
Reflections collected	33777	
Independent reflections	5726 [R(int) = 0.0482]	
Completeness to theta = 25.242°	94.1 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7451 and 0.6812	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	5726 / 0 / 502	
Goodness-of-fit on F^2	1.038	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0382, wR2 = 0.0886	
R indices (all data)	R1 = 0.0544, wR2 = 0.0975	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.484 and -0.575 e.$Å^{-3}$	

Table S11. Hydrogen bonds for mo_023UB26_0m_a.

Typ	Donor --- H	Acceptor	ARU	D - H	H...A	D...A	D - H...A
	O1W --H1WA	..N5	[-1/2+x,3/2-y,1/2+z]	0.86(3)	2.15(2)	3.001(2)	171(2)
	N2 --H2	..O5	[ ]	1.00	1.74	2.739(2)	174
	N2 --H2	..O6	[ ]	1.00	2.36	3.026(3)	123
	O1W --H1WB	..O5	[1/2-x,1/2+y,3/2-z]	0.88(3)	1.91(2)	2.763(2)	165(2)
Intra	N3 --H3N	..O4	[ ]	0.83(2)	1.92(2)	2.624(2)	141(2)
	O7 --H7A	..O1W	[ ]	0.86(3)	1.85(3)	2.692(2)	166.8(18)
	O9 --H9O	..O6	[1-x,-y,2-z]	0.84	1.91	2.741(5)	169
	O10 --H10O	..O6	[1-x,1-y,2-z]	0.84	1.96	2.761(5)	160

3.- Cocrystal screening experiments

Table S12. Cocrystal screening of Sildenafil

Methodology	Coformers	Nº Experiments	Nº Solids	Positive results[a]	Coformers	Form obtained (according to PXRD)
Solubility Study	-	54	53	-	-	Two anhydrous forms: I and II and six solvates: toluene, ACN, dioxane, chloroform,propanitrile and anisole
Liquid assisted grinding at 25ºC	9	32	32	1 / 2	6 / 2	SIL-TAR I and SIL-4-HBA I
Reaction Crystallization at 25ºC	9	16	16	2	4	SIL-QUE I, SIL-MEG, SIL-3-HBA I, SIL-4-HBA (II and III)
Solvent mediated transformation at 25 ºC	10	20	20	2	7	SIL-QUE II, SIL-3,4-DHBA (I and III), SIL-RES (I and II), SIL-TAR (II and III), SIL-CAF I, SIL-3-HBA III and SIL-4-HBA IV
Crystallizations at slow cooling rate	8	41	41	3	3	SIL-3,4-DHBA (II and IV), SIL-TAR IV and SIL-3-HBA (I and IV)
TGA heating at 100 ºC	1	1	1	2	1	SIL-CAF II
Preparation of the solid forms: scale up batches	8	31	31	2	8	SIL-QUE II, SIL-3,4-DHBA (I and III), SIL-RES II, SIL-TAR I, SIL-CAF I, SIL-MEG, SIL-3-HBA III, SIL-4-HBA III

[a] (1) positive: SIL + coformer + new peaks observed in PXRD, (2) positive: cocrystal or salt, (3) single crystal

4.- Characterization of the solids

Figure S1: DSC of Form SIL-QUE I

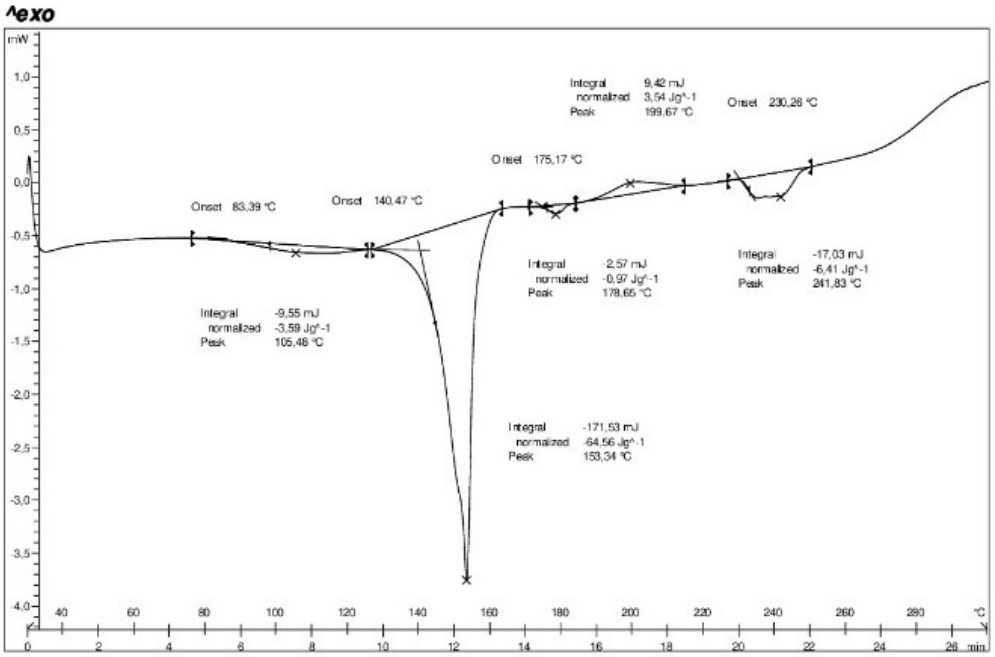


Figure S2: TGA of Form SIL-QUE I

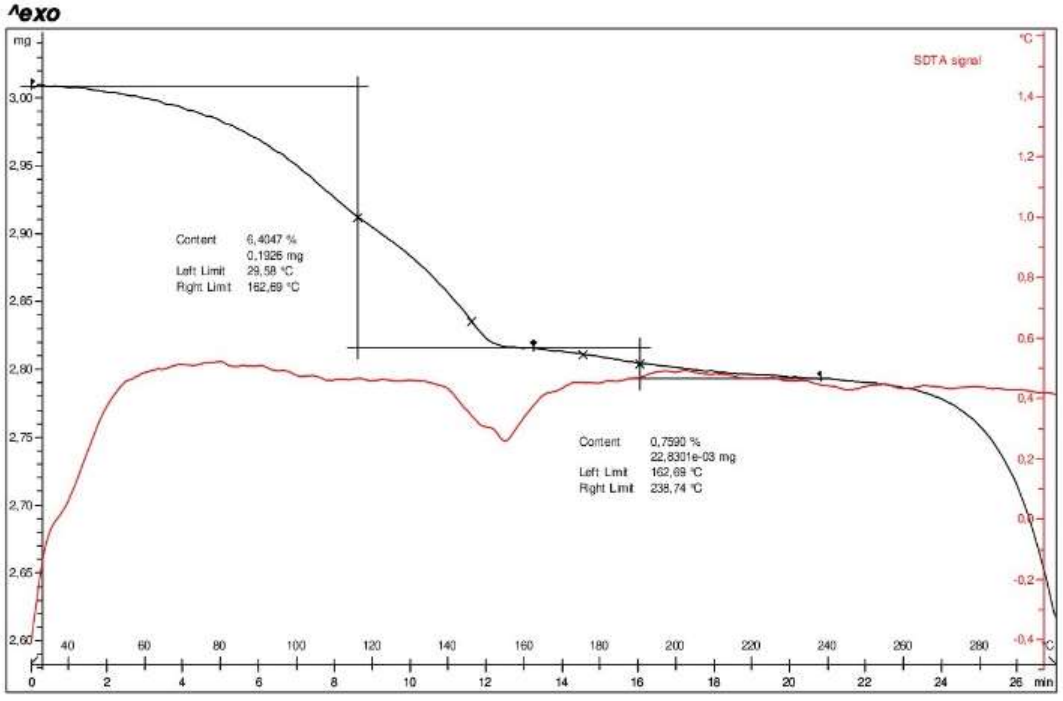
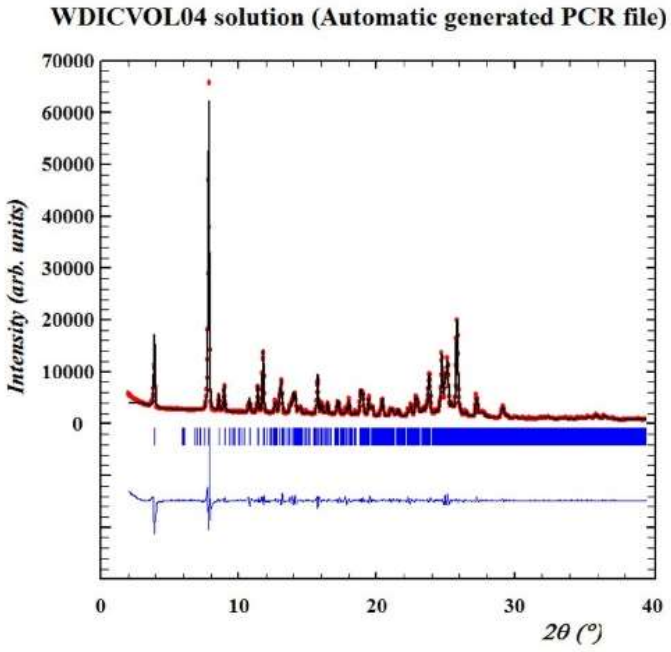


Figure S3: The XRPD of Form SIL-QUE I has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=42.39(2) Å, b=14.854(4) Å, c=15.059(6) Å, α = 82.41 (3)°, β= 138.08(2)°, γ= 120.01(2)°, V=4992(3) Å^3 (Figures of Merit: M= 13, F= 51), a *P*-1 space group is compatible with the cell.



13

Figure S4: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-QUE I

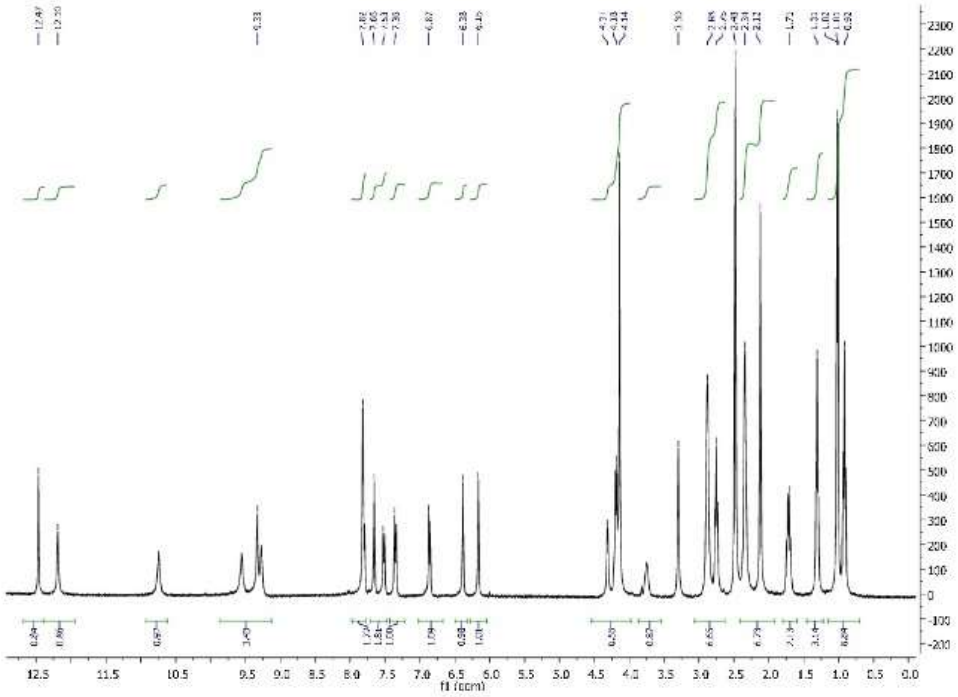


Figure S5: DSC of Form SIL-QUE II

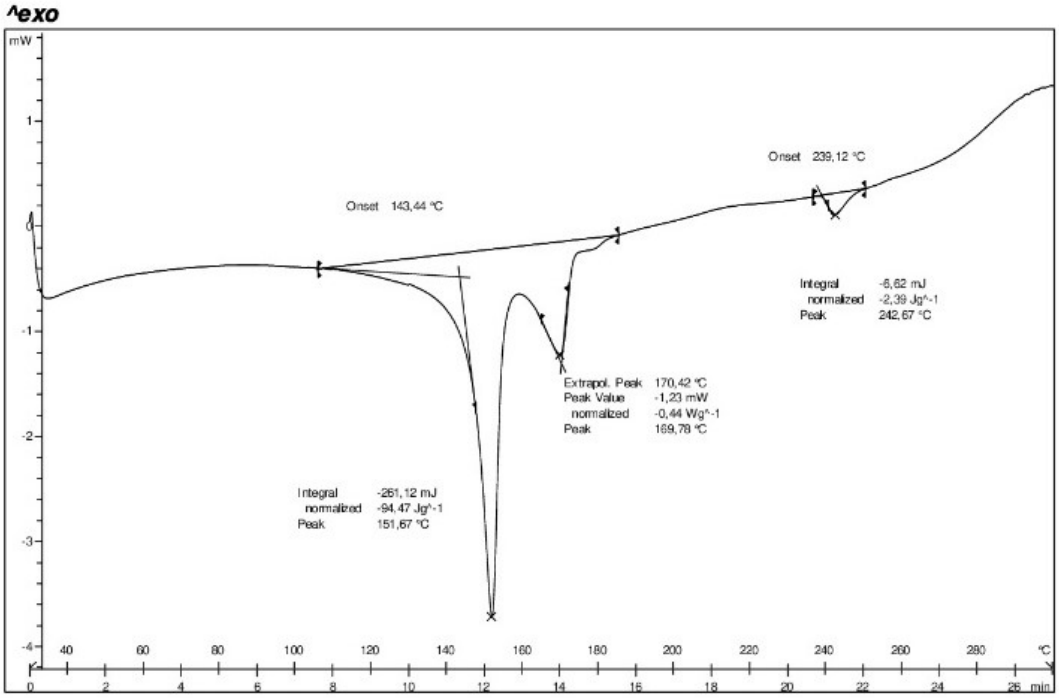


Figure S6: TGA of Form SIL-QUE II

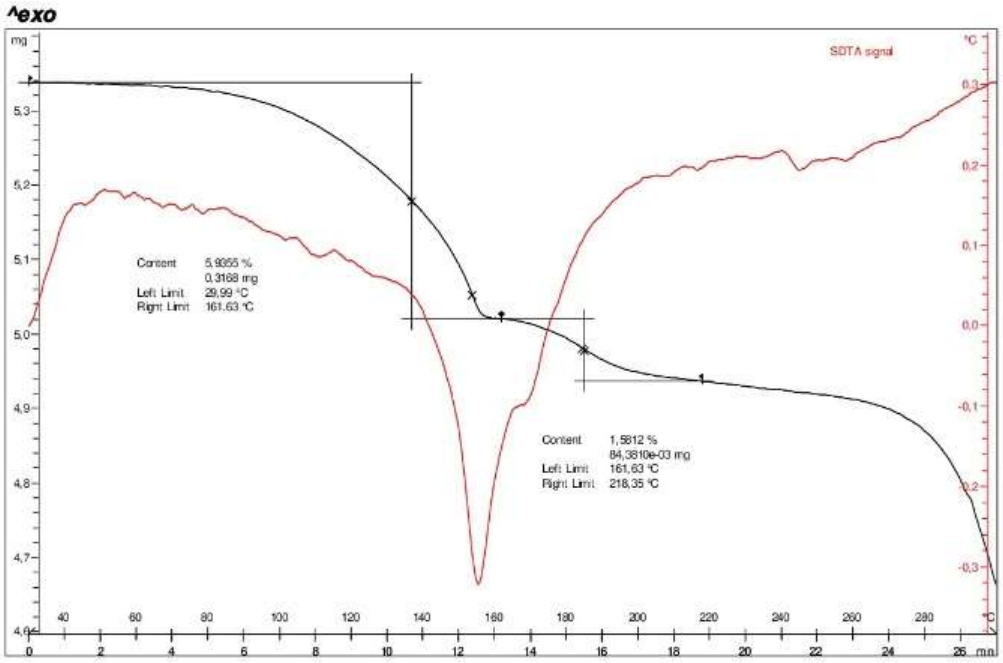


Figure S7: The XRPD of Form SIL-QUE II has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=22.528(8) Å, b=13.536(4) Å, c=8.007(2) Å, α = 57.95 (2)°, β= 95.99(3)°, γ= 95.96(2)°, V=2054(1) Å^3 (Figures of Merit: M= 30, F= 96), a *P*-1 space group is compatible with the cell.

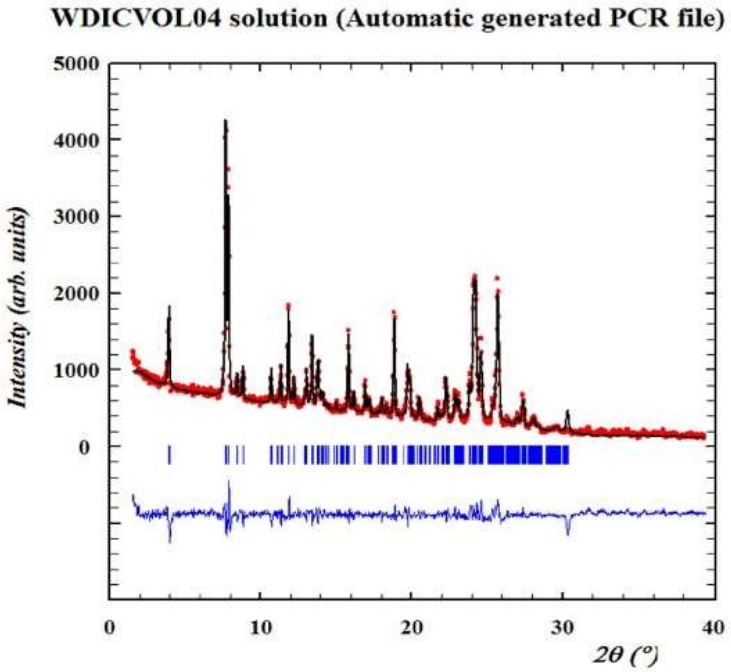


Figure S8: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-QUE II

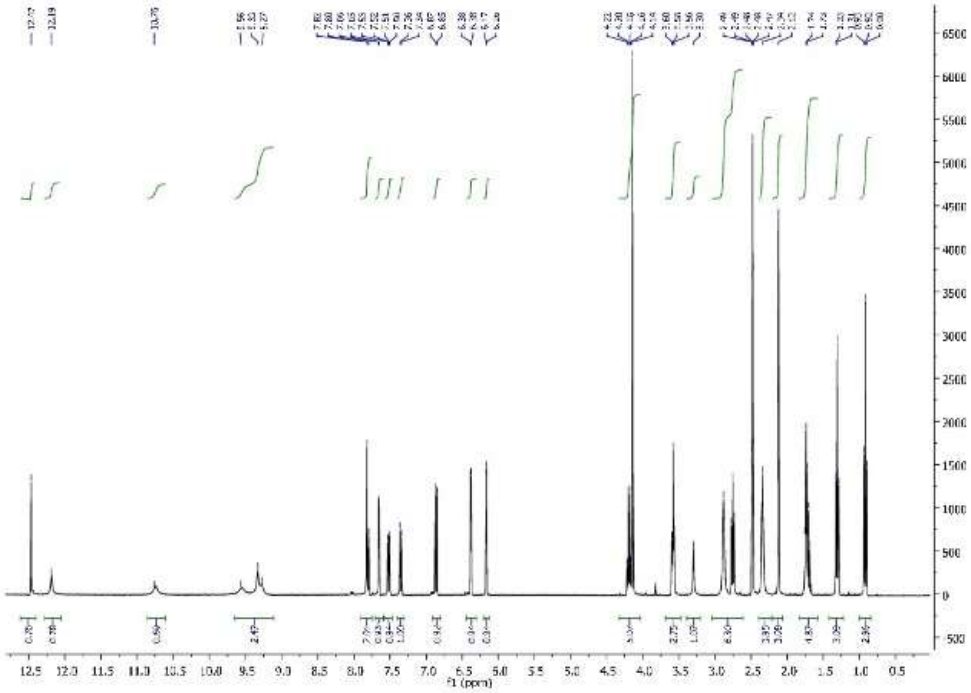


Figure S9: DSC of Form SIL-3,4-DHBA I

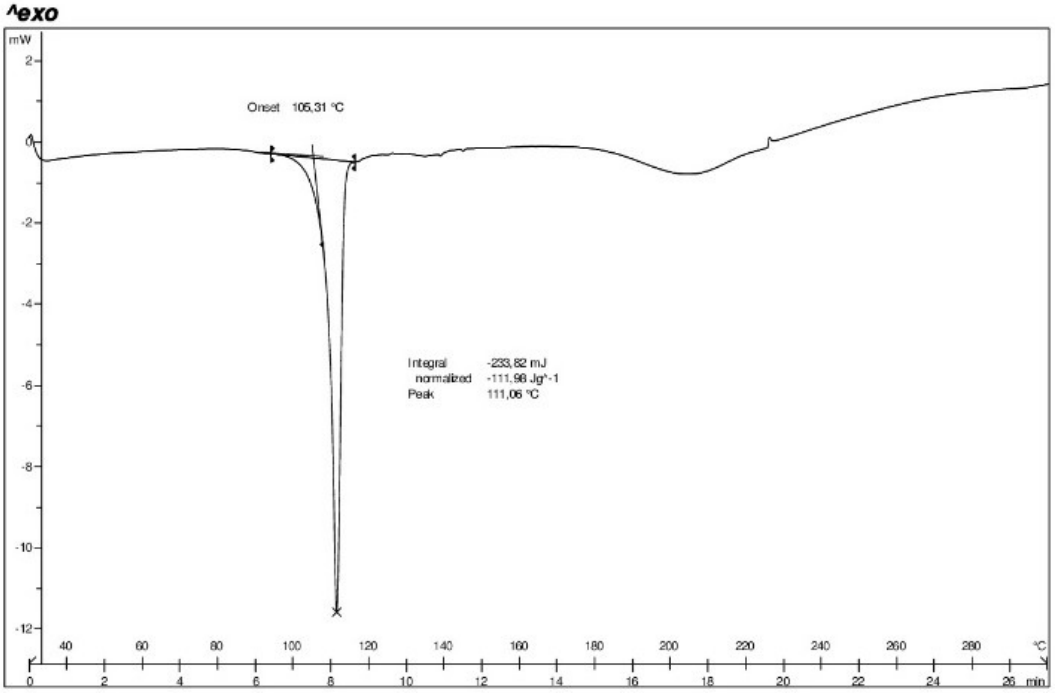


Figure S10: TGA of Form SIL-3,4-DHBA I

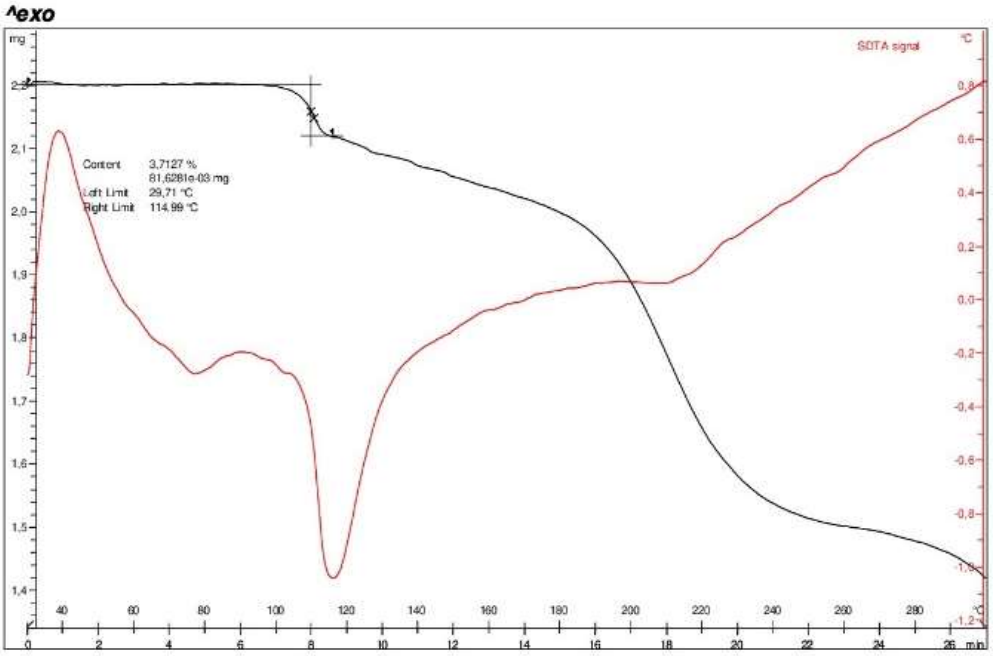


Figure S11: The XRPD of Form SIL-3,4-DHBA I has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=12.765(2) Å, b=13.463(1) Å, c=12.106(2) Å, α = 112.03 (1)°, β= 84.092(9)°, γ= 114.28(1)°, V=1754.7(3) Å^3 (Figures of Merit: M= 52, F= 187), a *P*-1 space group is compatible with the cell.

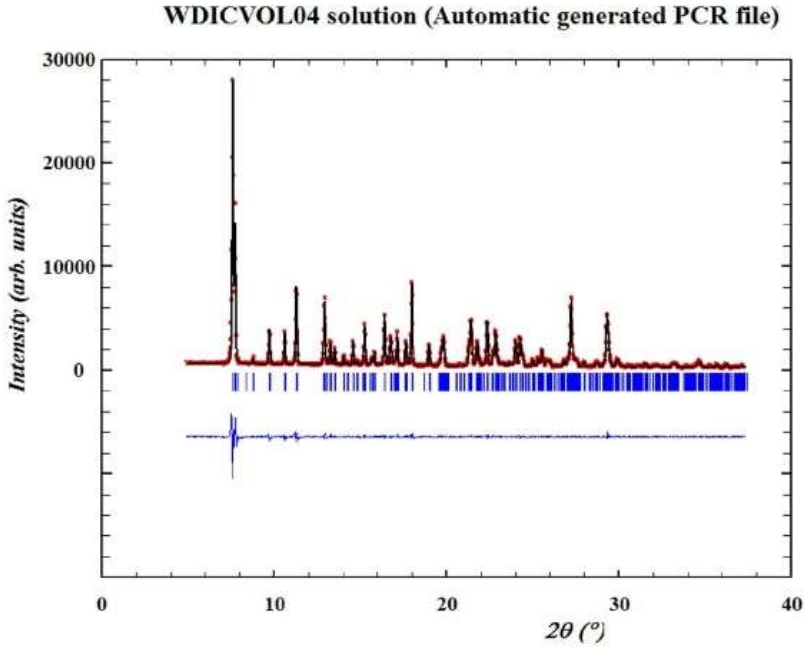
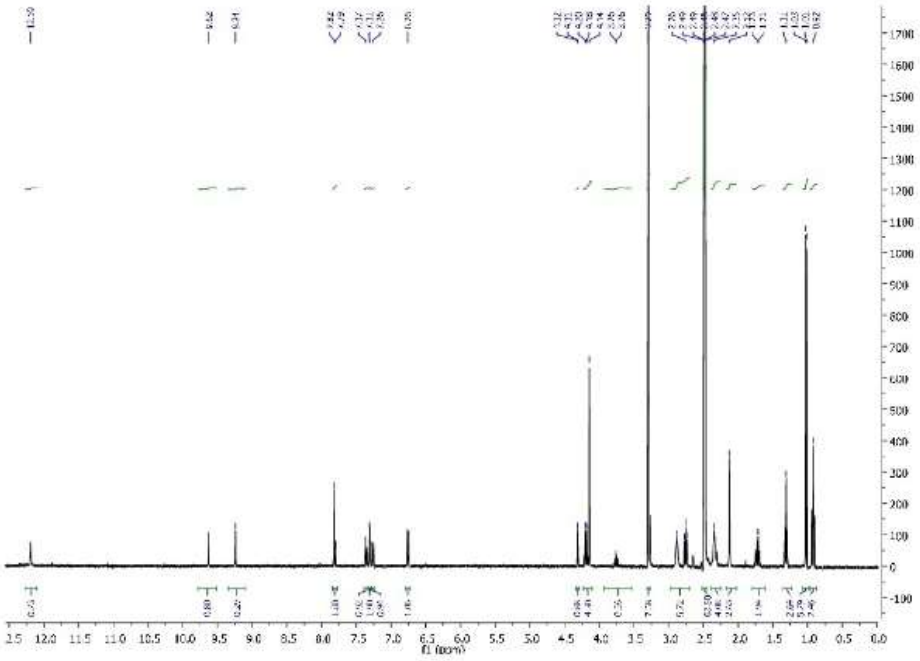


Figure S12: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-3,4-DHBA I



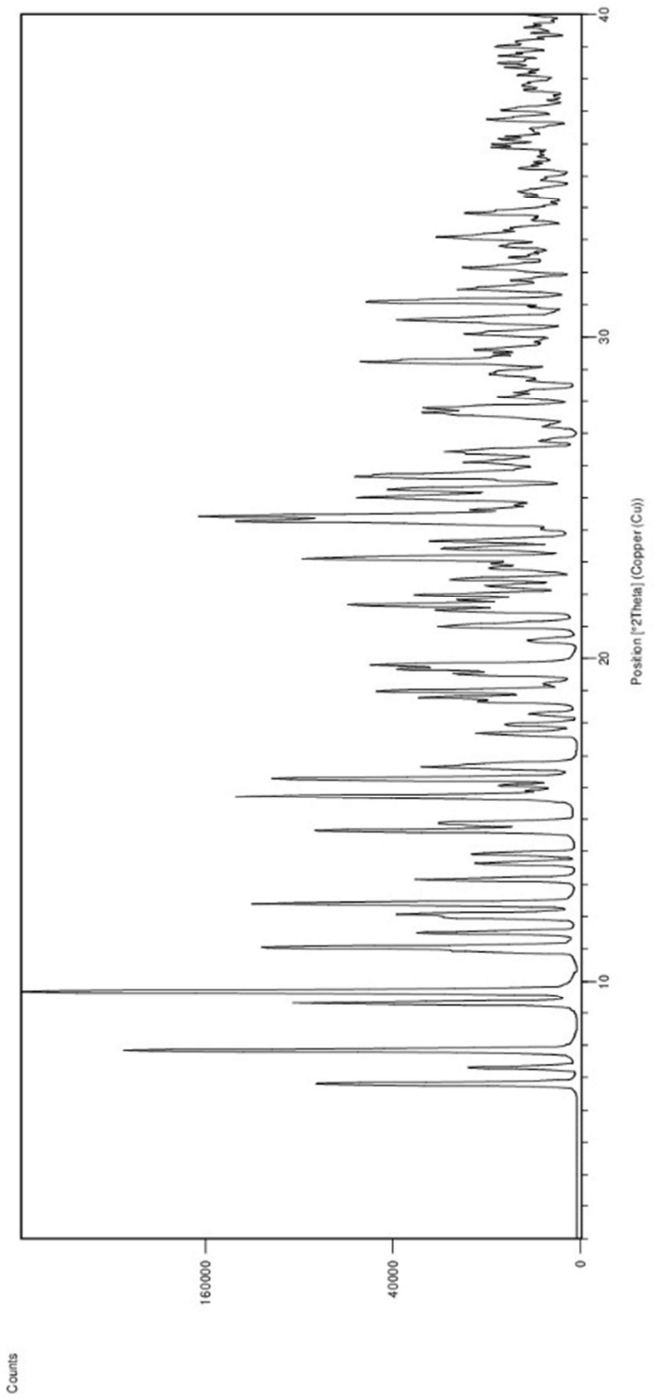


Figure S13: Simulated PXRD of Form SIL-3,4-DHBA II

Figure S14: DSC of Form SIL-3,4-DHBA III

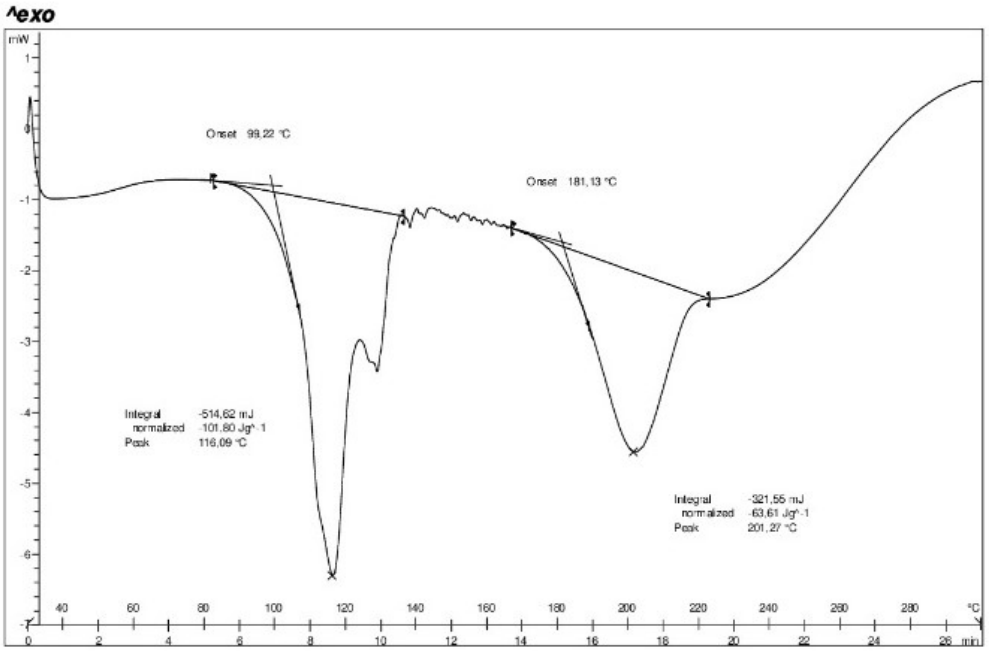


Figure S15: TGA of Form SIL-3,4-DHBA III

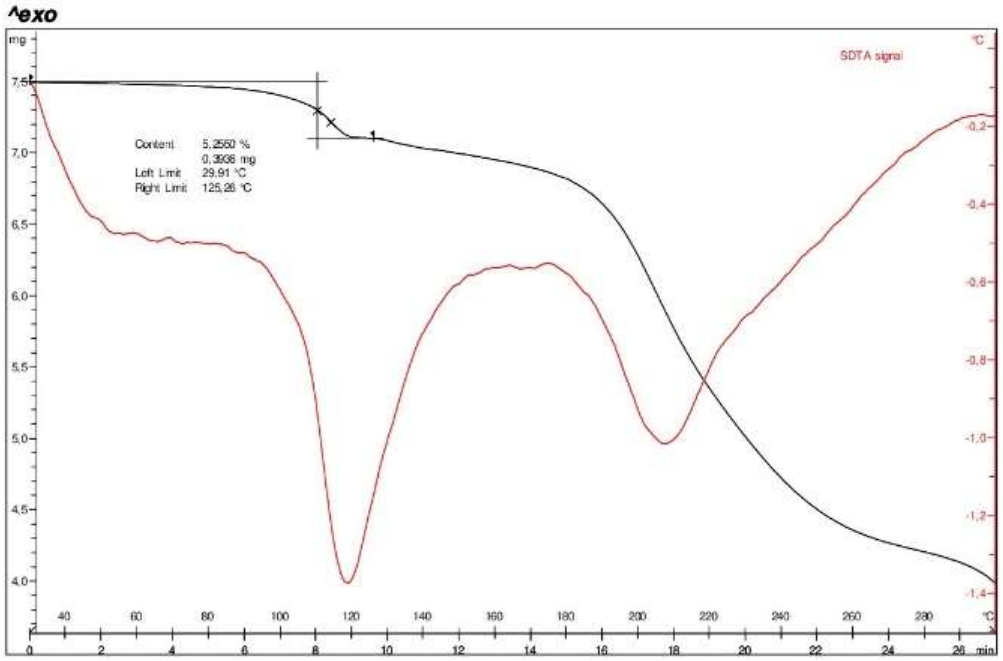


Figure S16: The XRPD of Form SIL-3,4-DHBA III has been indexed with the following proposed monoclinic cell: a=24.947(6) Å, b=15.718(3) Å, c=11.642(3) Å, β= 103.96(2)°, V=4430(2) Å^3 (Figures of Merit: M= 24, F= 77), a *P*21/n space group is compatible with the cell.

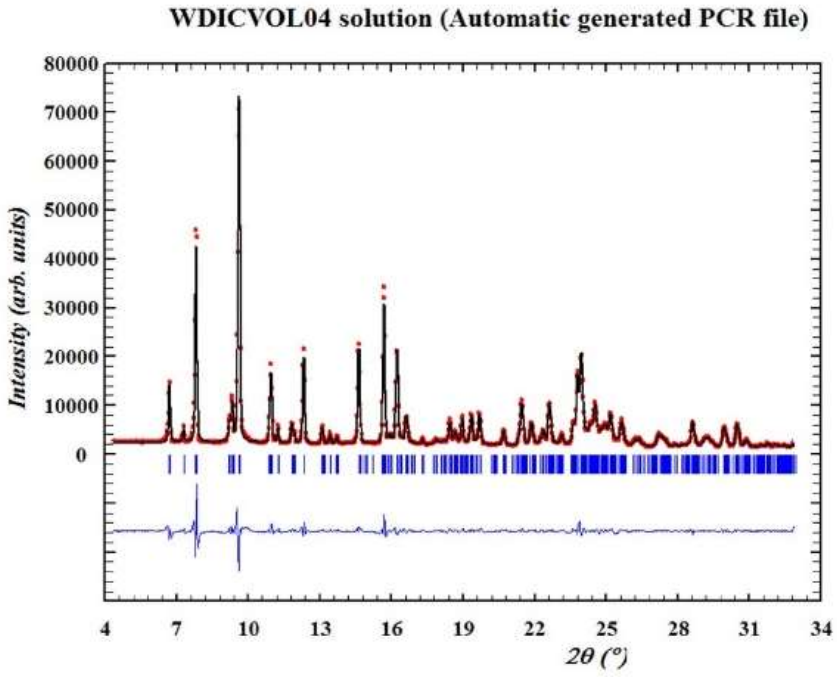
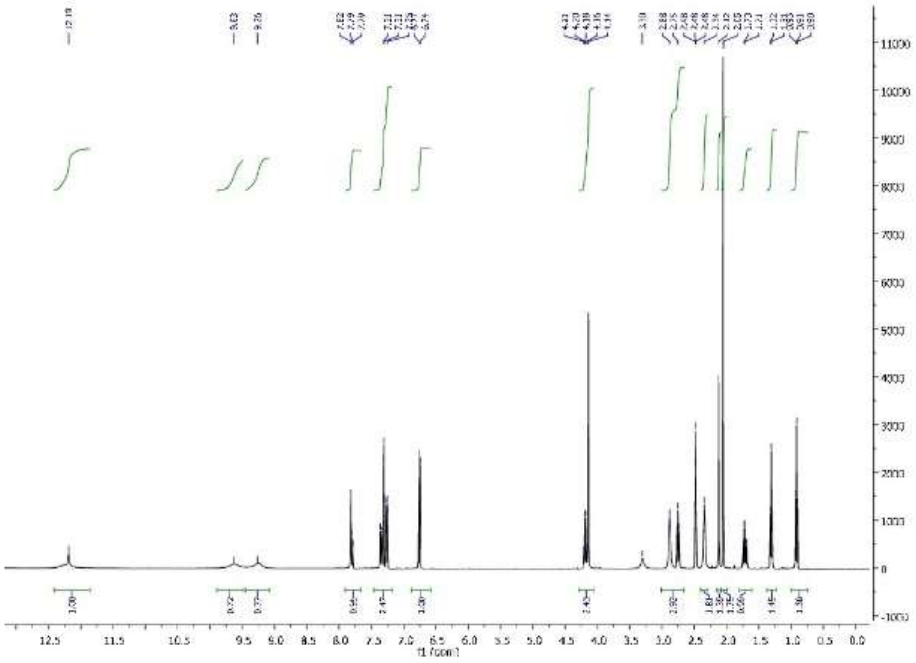


Figure S17: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-3,4-DHBA III



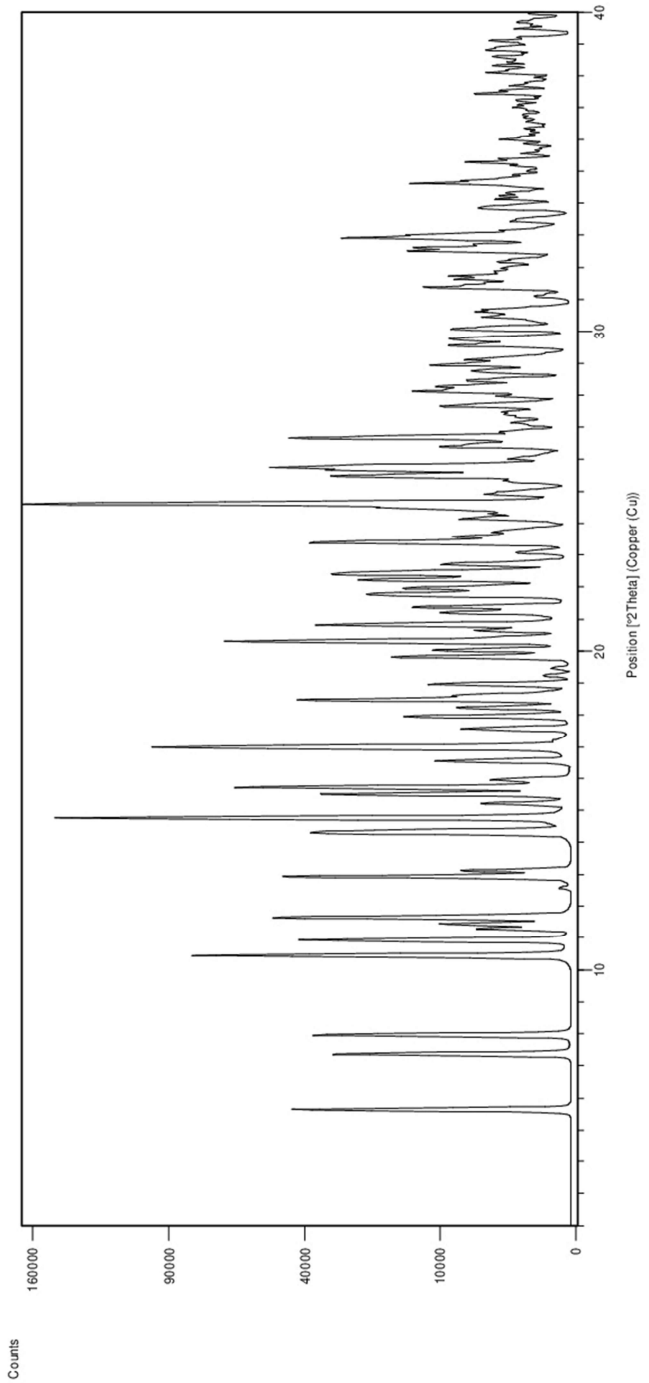


Figure S18: Simulated PXRD of Form SIL-3,4-DHBA IV

Figure S19: DSC of Form SIL-RES I

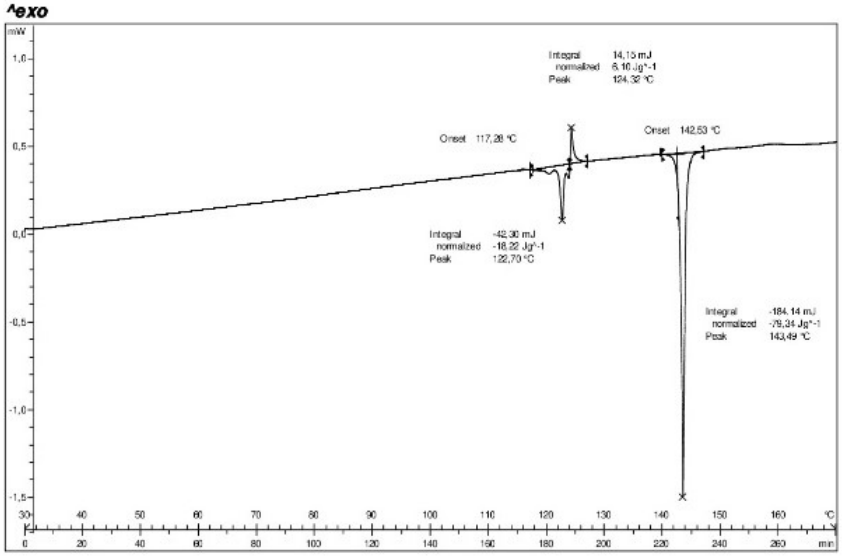


Figure S20: DSC of Form SIL-RES I: enlargement (overlapping of fourth phenomena)

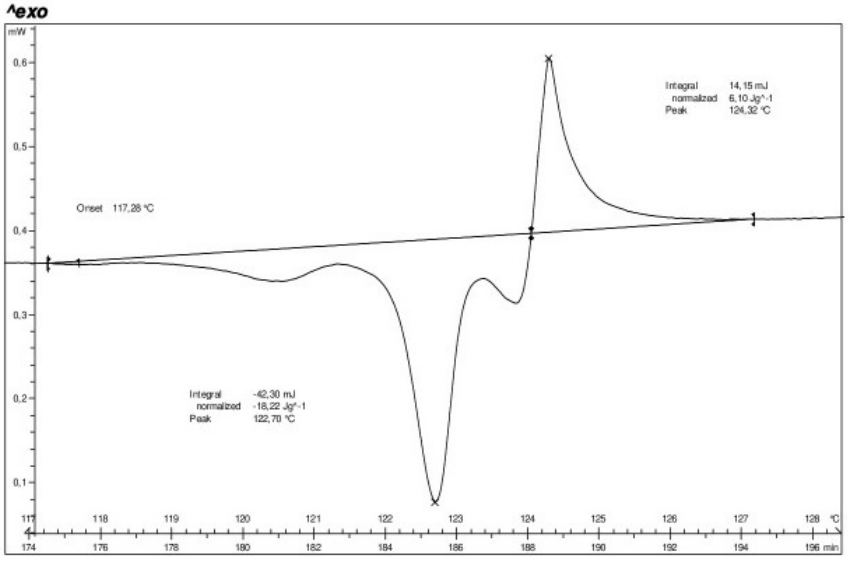


Figure S21: TGA of Form SIL-RES I

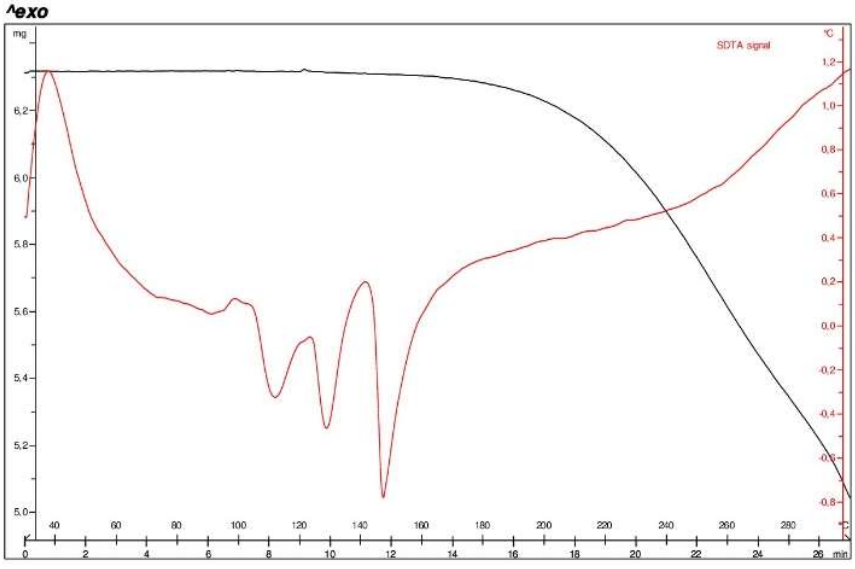


Figure S22: The XRPD of Form SIL-RES I has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=11.266(2) Å, b=14.835(2) Å, c=14.178(2) Å, α = 38.099(7)°, β= 94.79(1)°, γ= 96.09(9)°, V=1453.9(3) Å^3 (Figures of Merit: M= 31, F= 90), a *P*-1 space group is compatible with the cell.

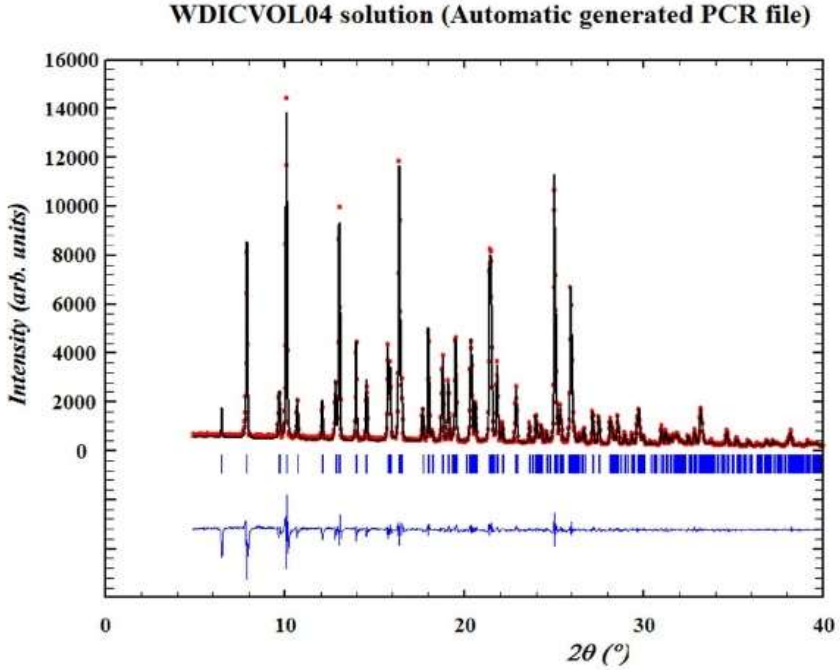


Figure S23: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-RES I

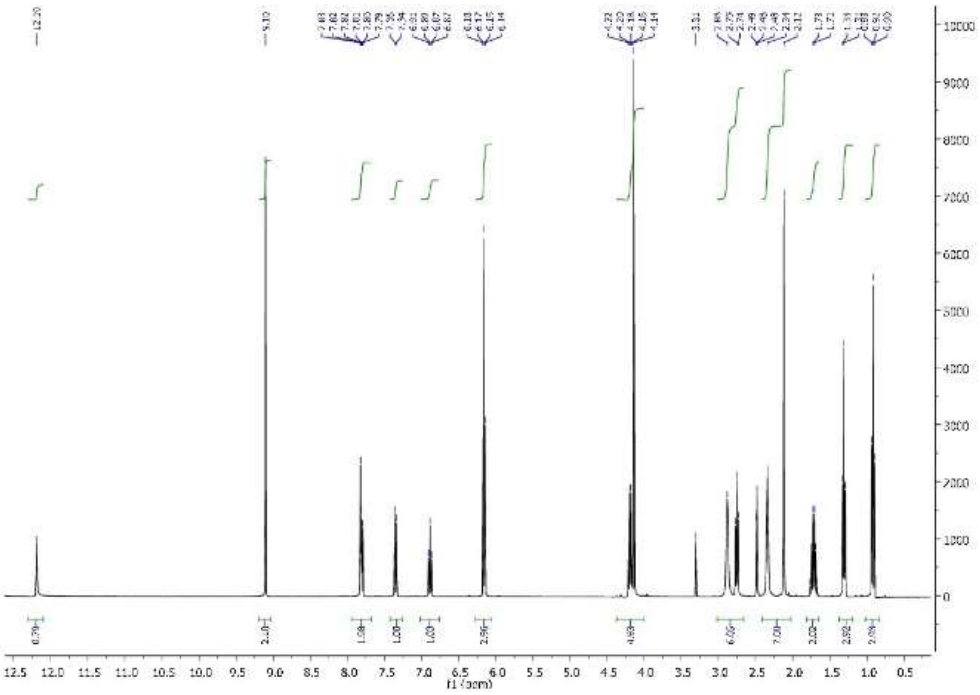


Figure S24: DSC of Form SIL-RES II

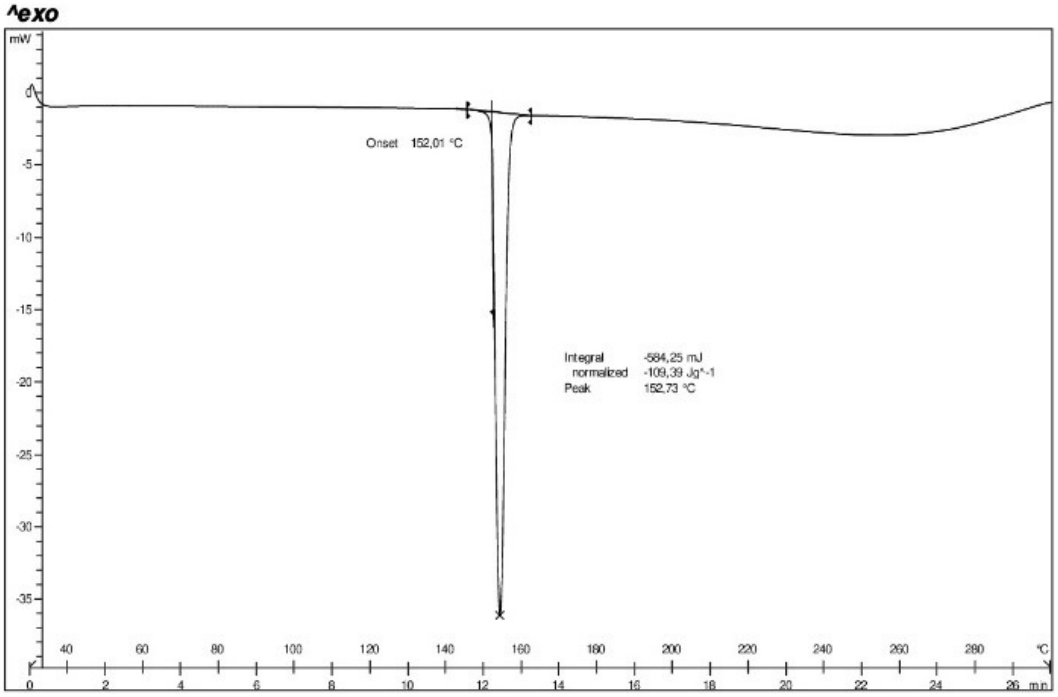


Figure S25: TGA of Form SIL-RES II

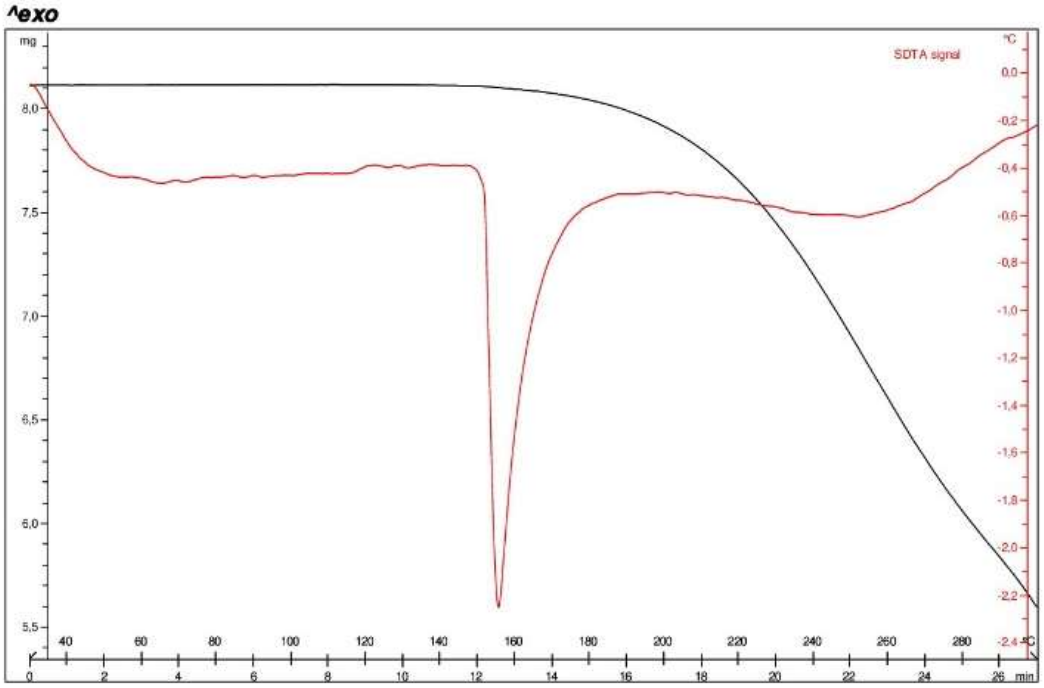


Figure S26: The XRPD of Form SIL-RES II has been indexed with the following proposed monoclinic cell: a=14.2705(4) Å, b=26.083(2) Å, c=9.9925(5) Å, β= 108.398(3)°, V=3530.0(3) Å^3 (Figures of Merit: M= 65, F= 204), a *P*21/a space group is compatible with the cell.

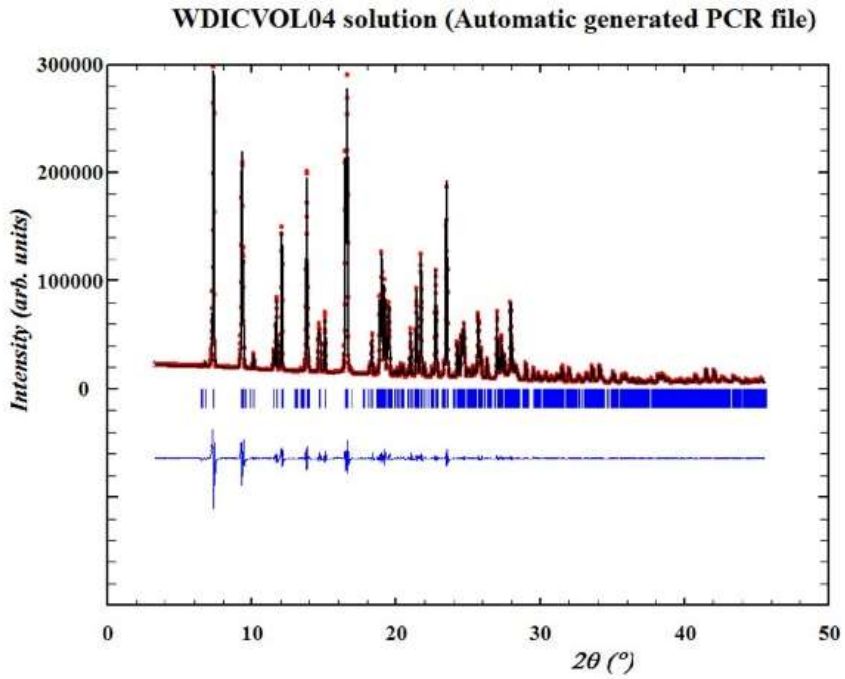


Figure S27: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-RES II

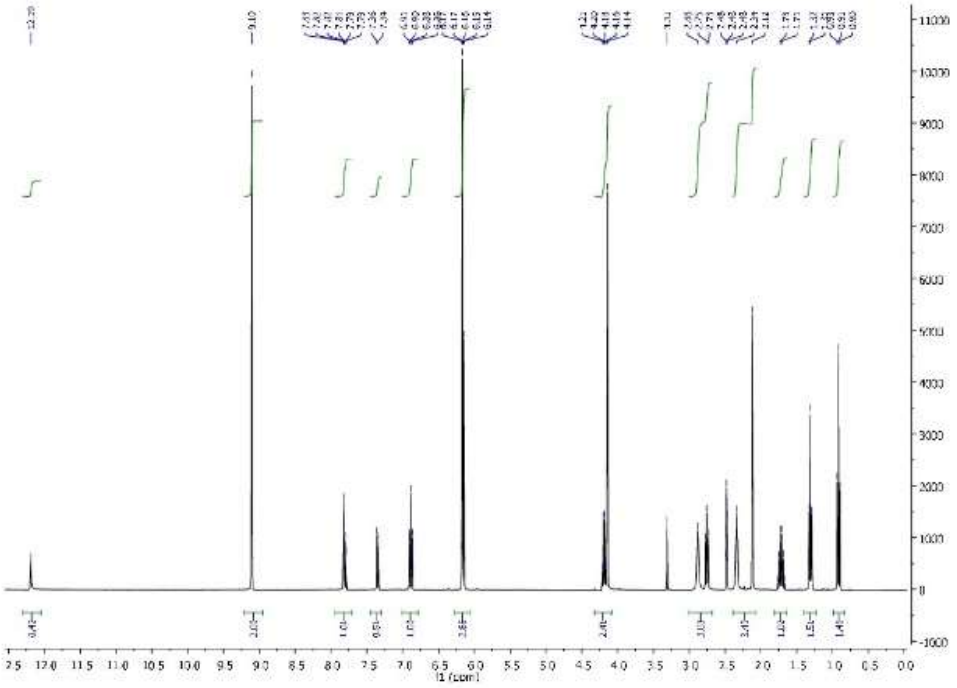


Figure S28: The XRPD of Form SIL-TAR I has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=18.07(1) Å, b=13.609(6) Å, c=7.590(4) Å, α = 85.98(3)°, β= 92.33(3)°, γ= 110.09(4)°, V=1749(1) Å^3 (Figures of Merit: M= 10, F= 28), a *P*-1 space group is compatible with the cell.

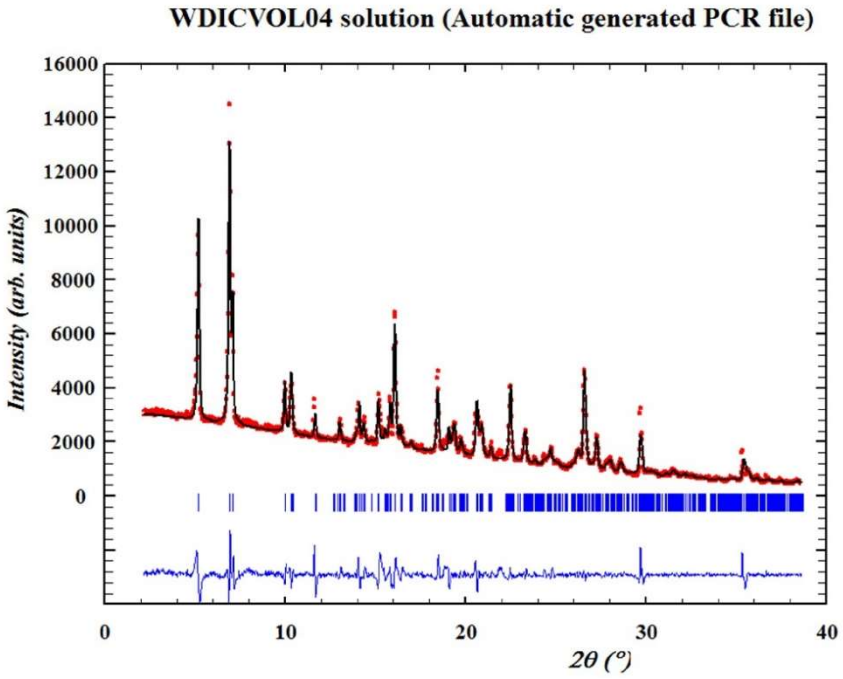


Figure S29: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-TAR I

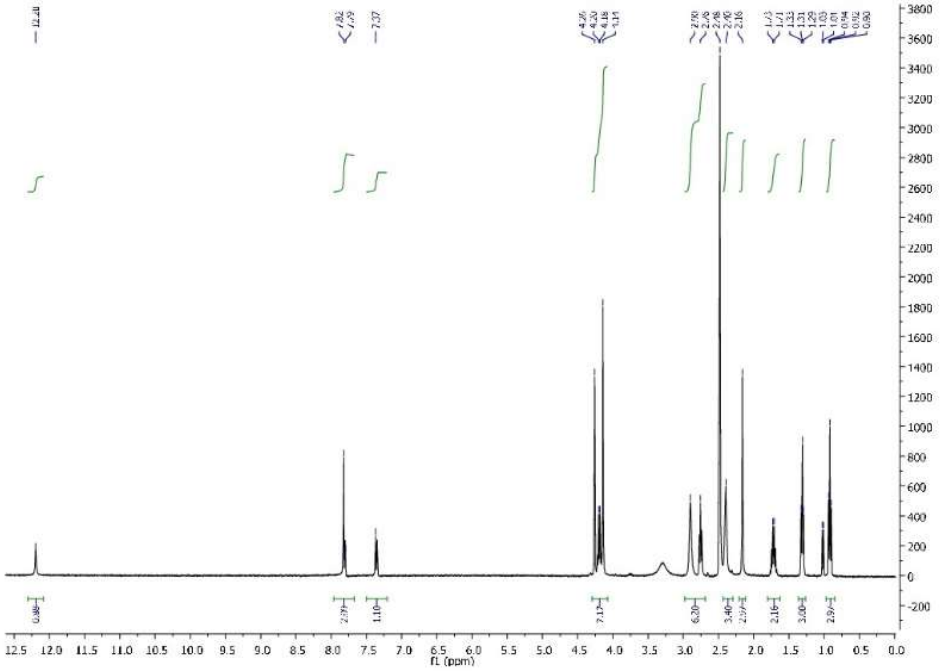


Figure S30: DSC of Form SIL-TAR II

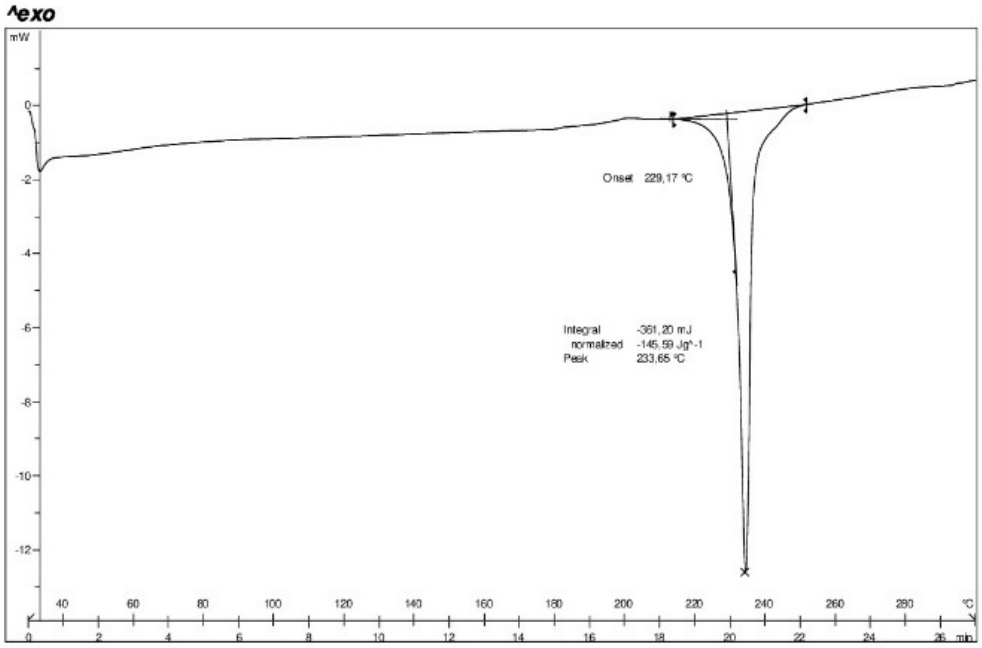


Figure S31: TGA of Form SIL-TAR II

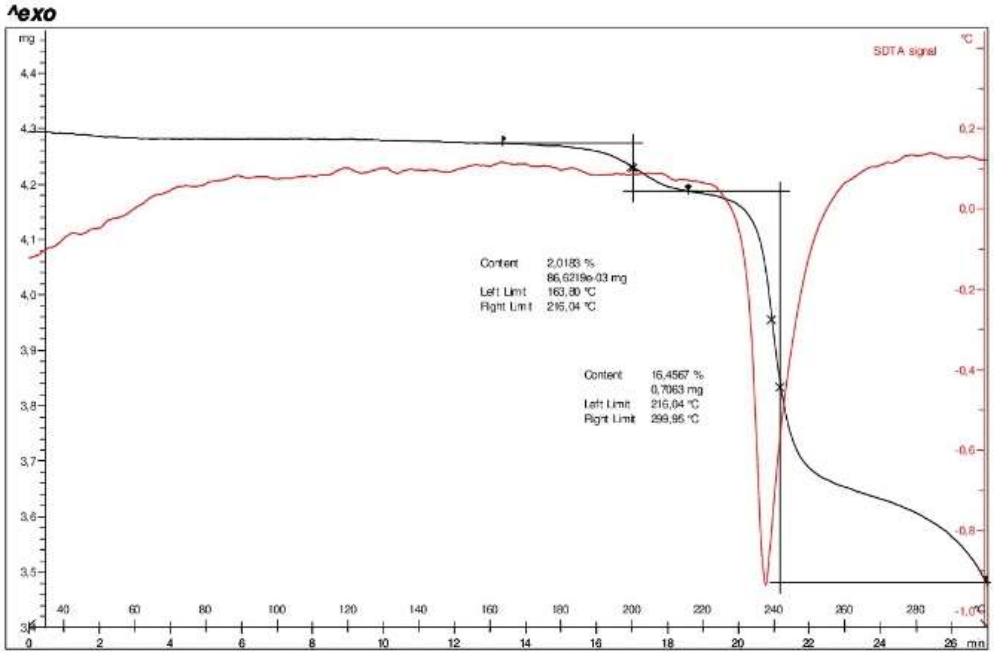


Figure S32: The XRPD of Form SIL-TAR II has been indexed with the following proposed orthorhombic cell: a=33.57(9) Å, b=14.050(3) Å, c=11.537(3) Å, V=5445(2) Å^3 (Figures of Merit: M= 17, F= 55), a *P*21 21 21 space group is compatible with the cell.

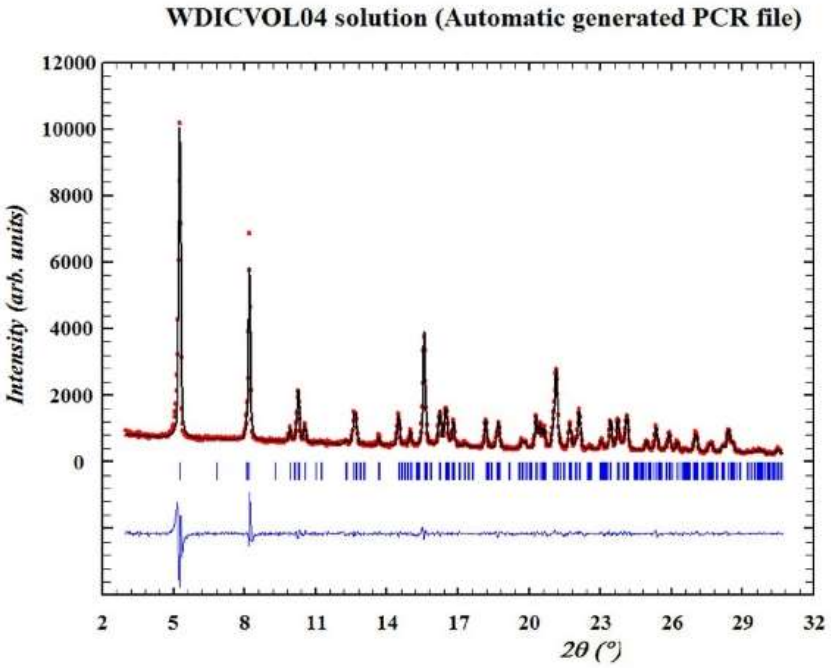


Figure S33: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-TAR II

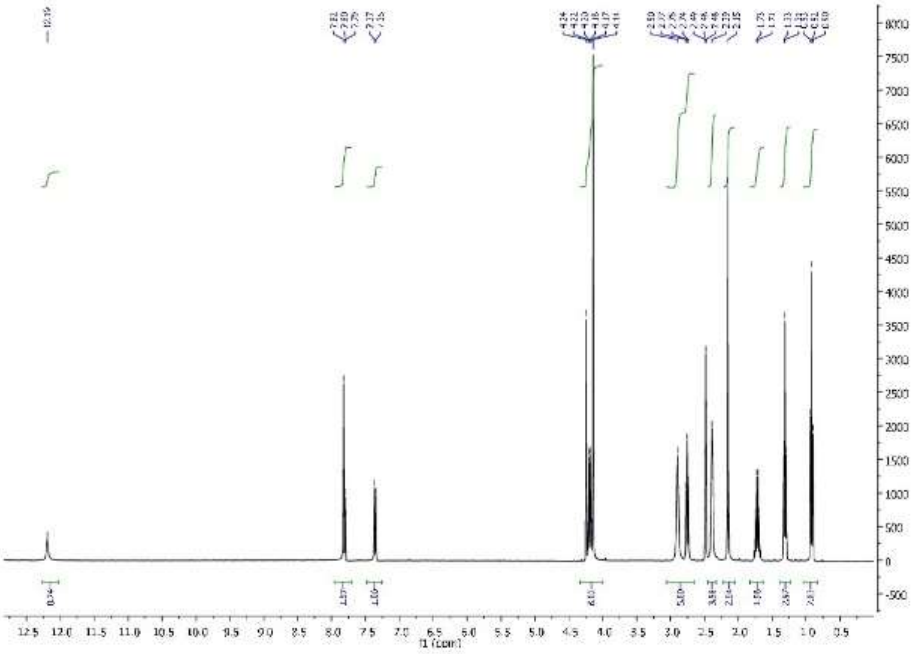


Figure S34: DSC of Form SIL-TAR III

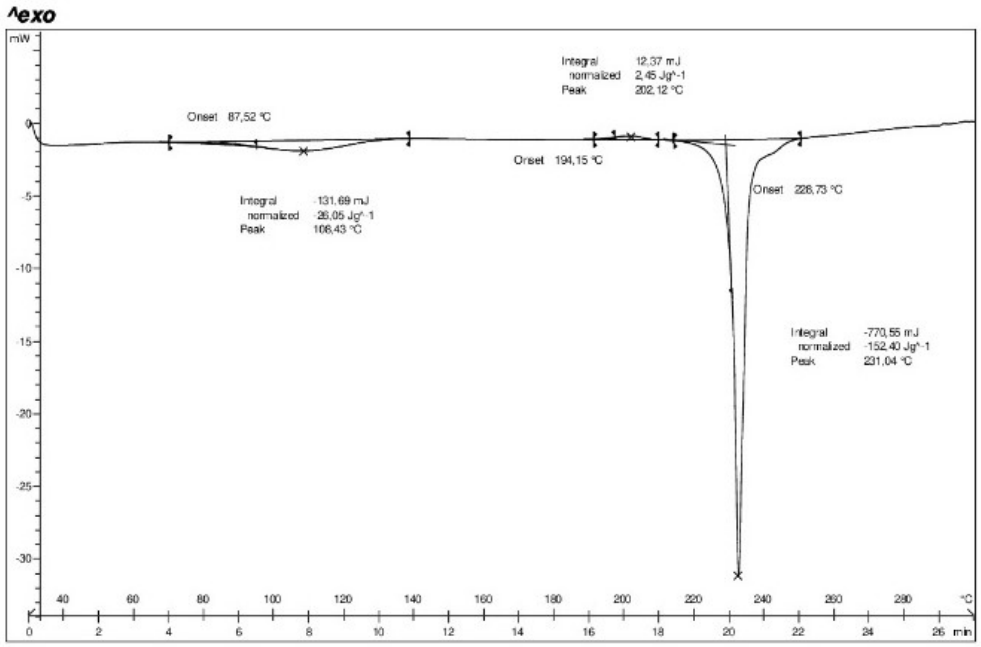


Figure S35: TGA of Form SIL-TAR III

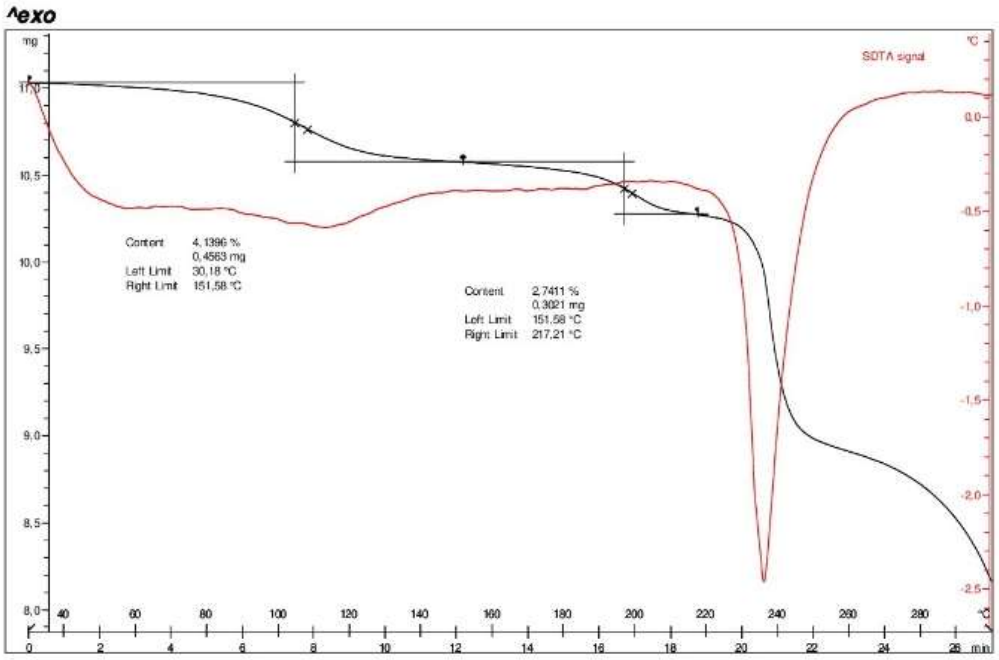


Figure S36: The XRPD of Form SIL-TAR III has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=18.313(4) Å, b=15.070(3) Å, c=6.3764(9) Å, α = 65.85(1)°, β= 101.56(1)°, γ= 112.86(2)°, V=1454.5(5) Å^3 (Figures of Merit: M= 98, F= 293), a *P*-1 space group is compatible with the cell.

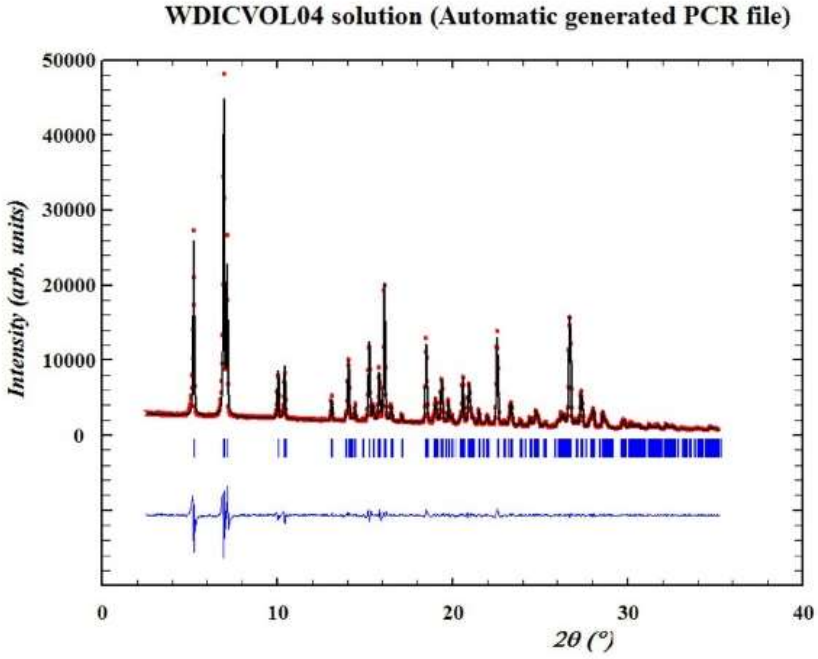
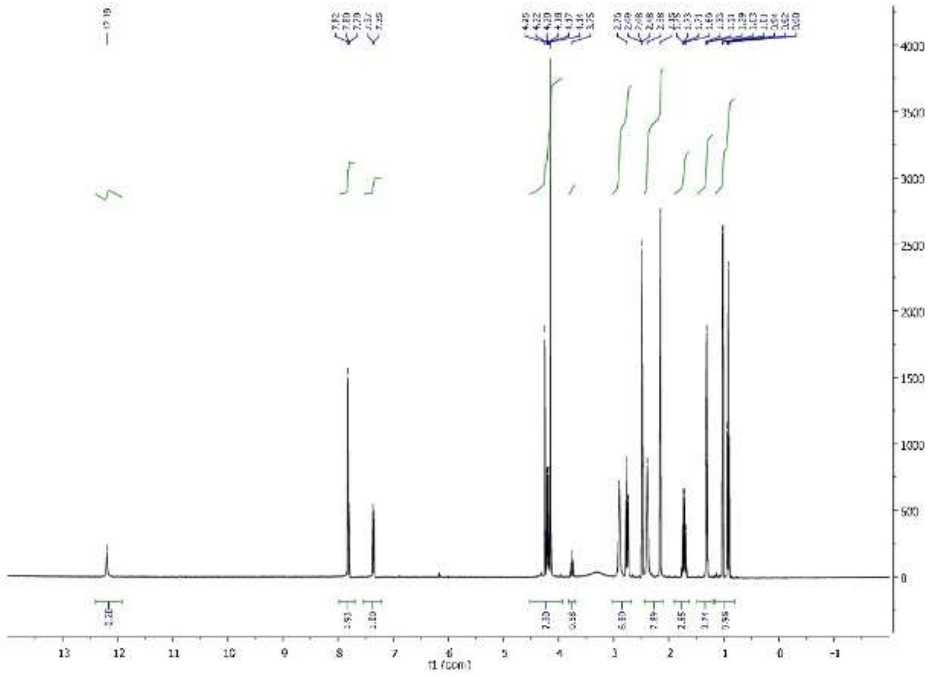


Figure S37: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 32) of Form SIL-TAR III



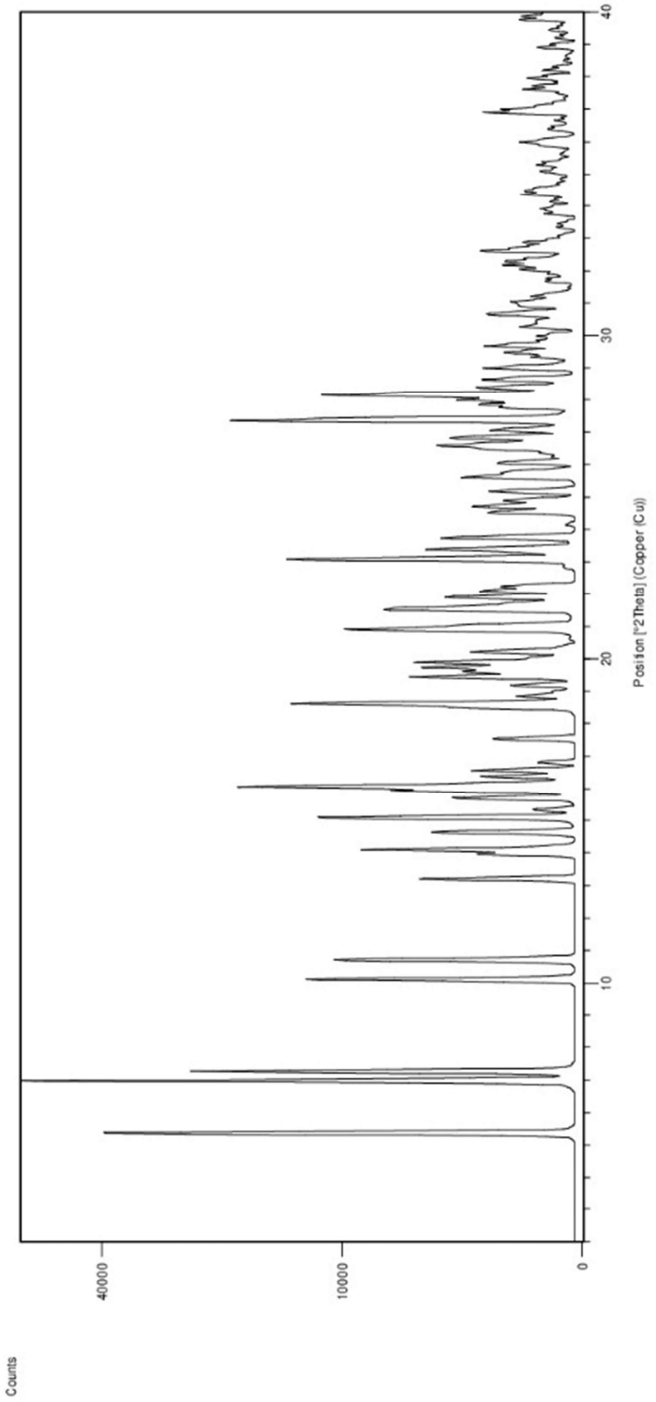


Figure S38: Simulated PXRD of Form SIL-TAR IV

Figure S39: DSC of Form SIL-CAF I

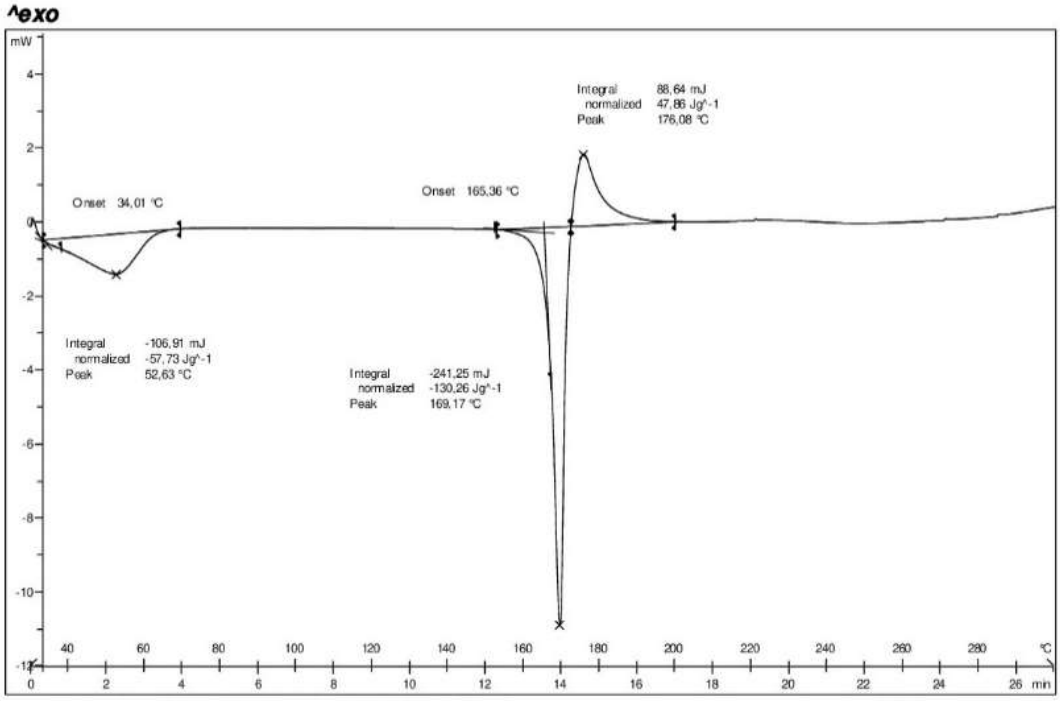


Figure S40: TGA of Form SIL-CAF I

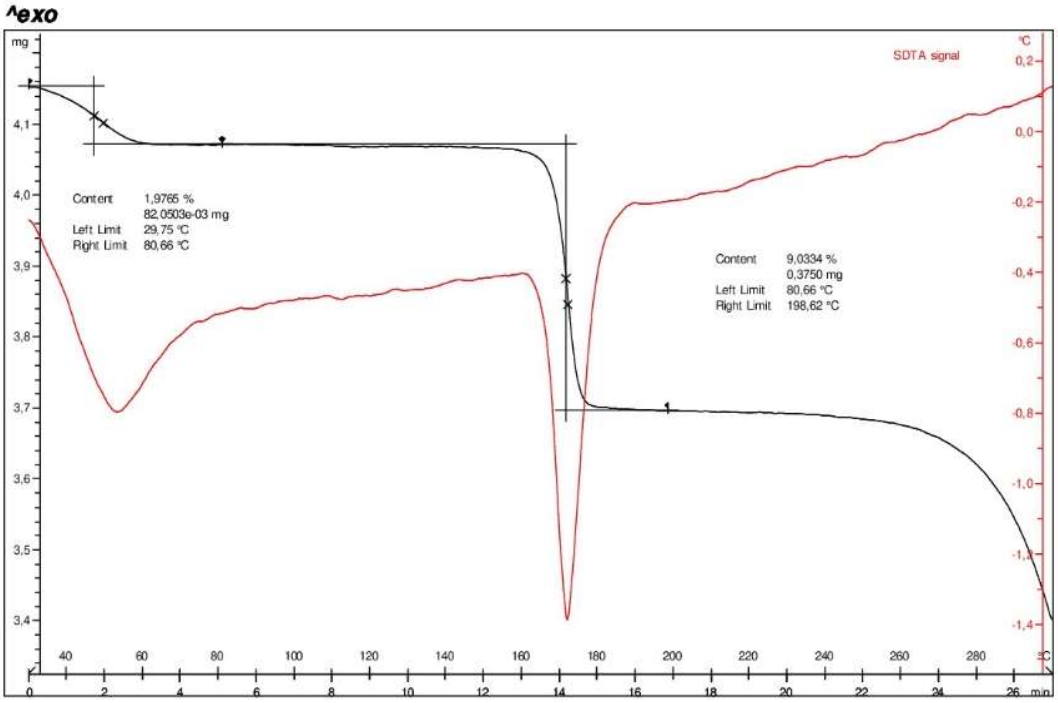


Figure S41: The XRPD of Form SIL-CAF I has been indexed with the following proposed monoclinic cell: a=25.845(7) Å, b=8.336(1) Å, c=20.32(6) Å, β= 121.19(1)º, V=3744(2) Å^3 (Figures of Merit: M= 20, F= 57), a *P*21/m space group is compatible with the cell.

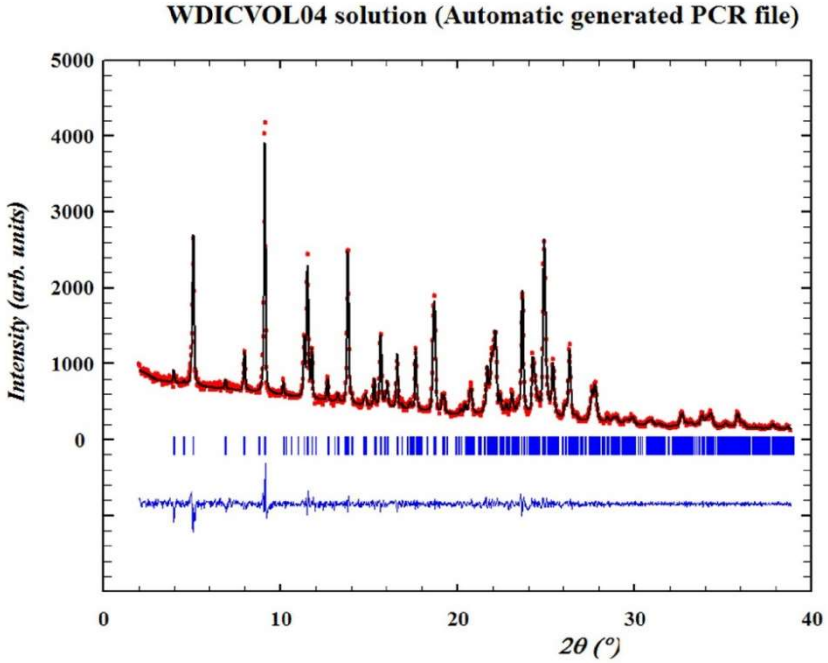


Figure S42: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45º/scans: 64) of Form SIL-CAF I

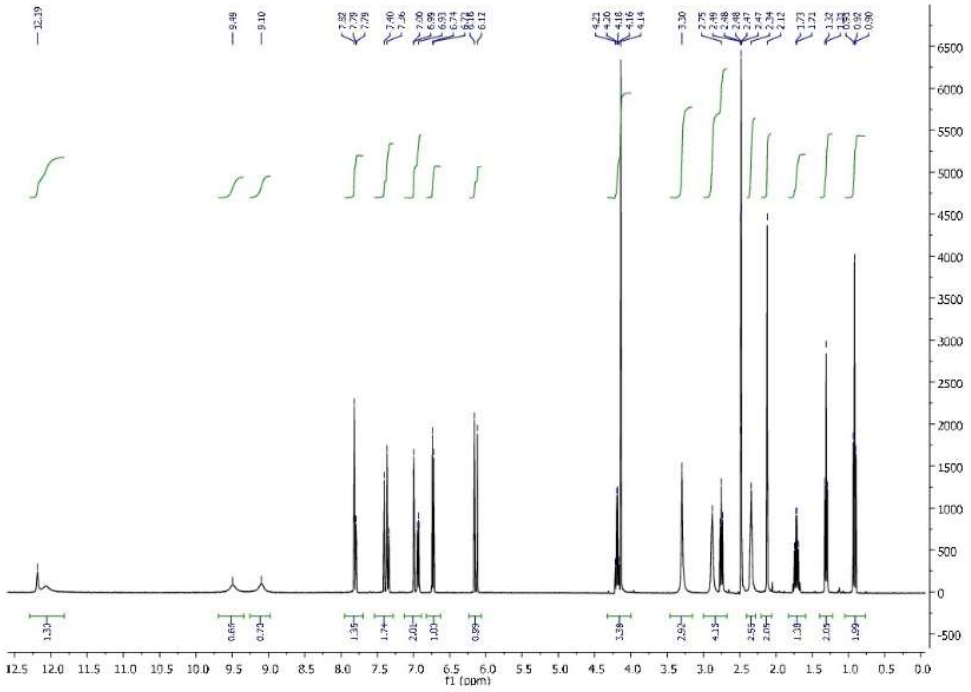


Figure S43: DSC of Form SIL-CAF II

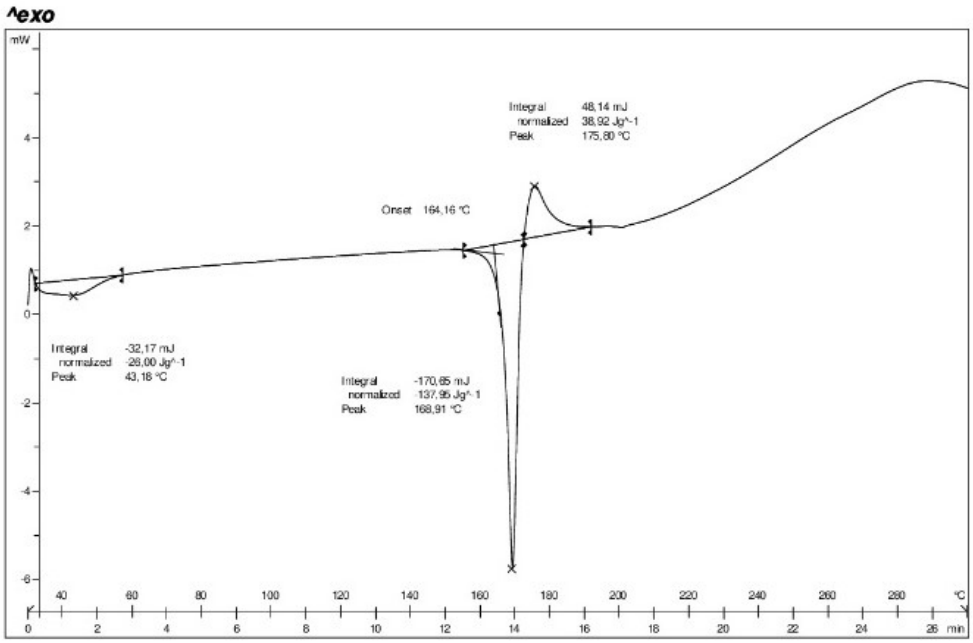


Figure S44: TGA of Form SIL-CAF II

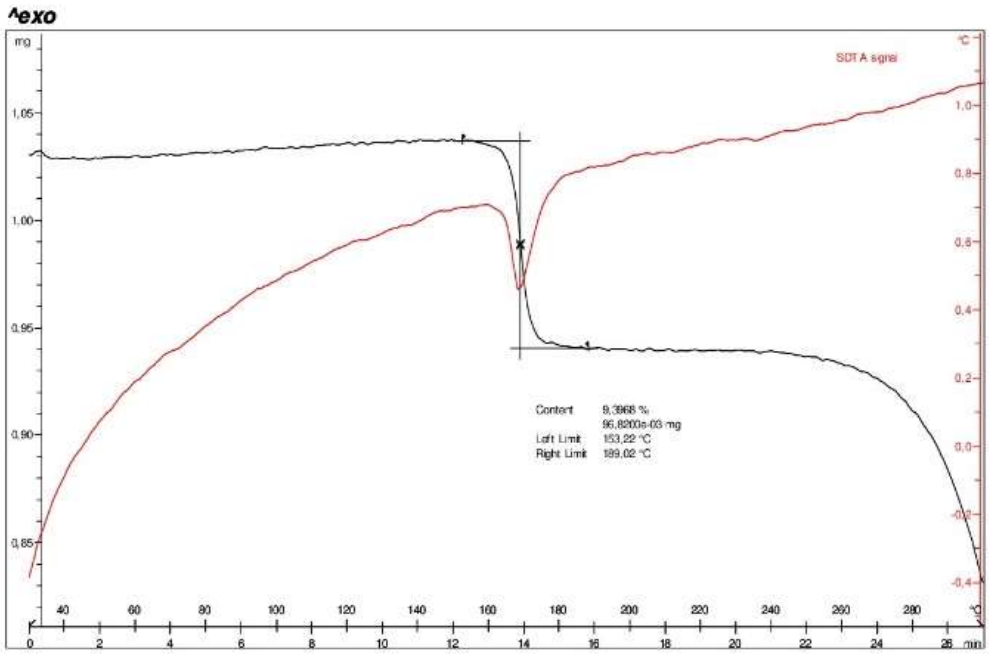


Figure S45: PXRD of Form SIL-CAF II

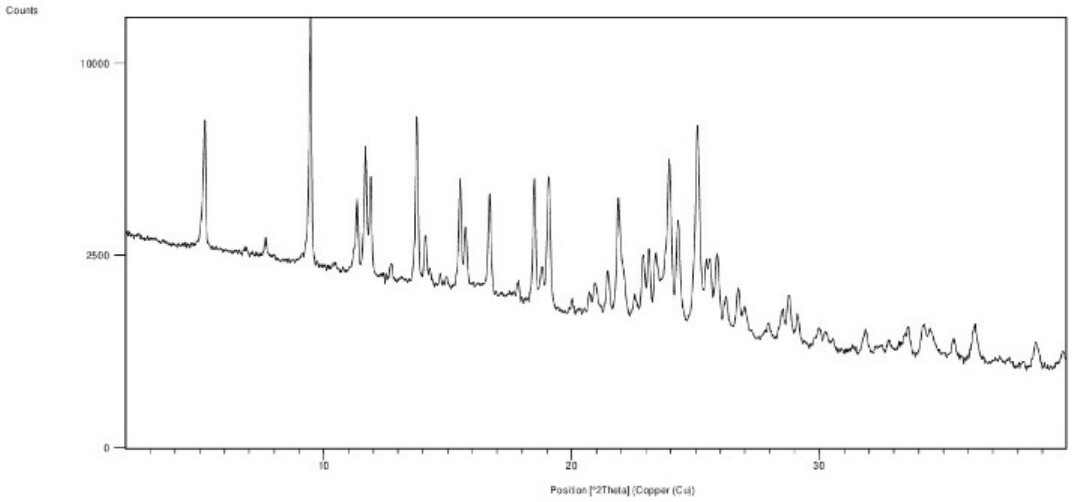


Figure S46: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 32) of SIL-CAF II

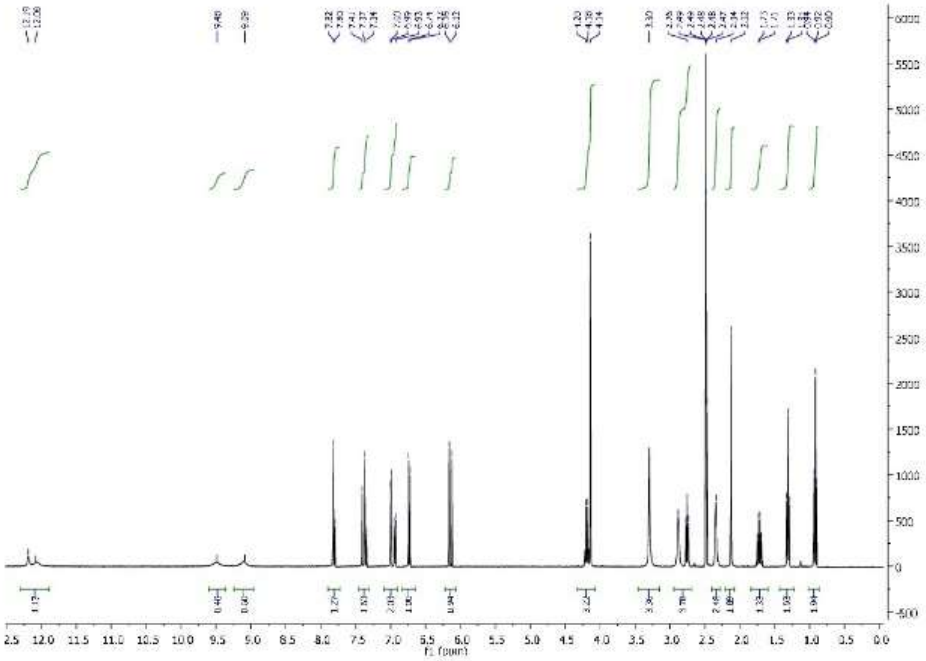


Figure S47: DSC of Form SIL-MEG

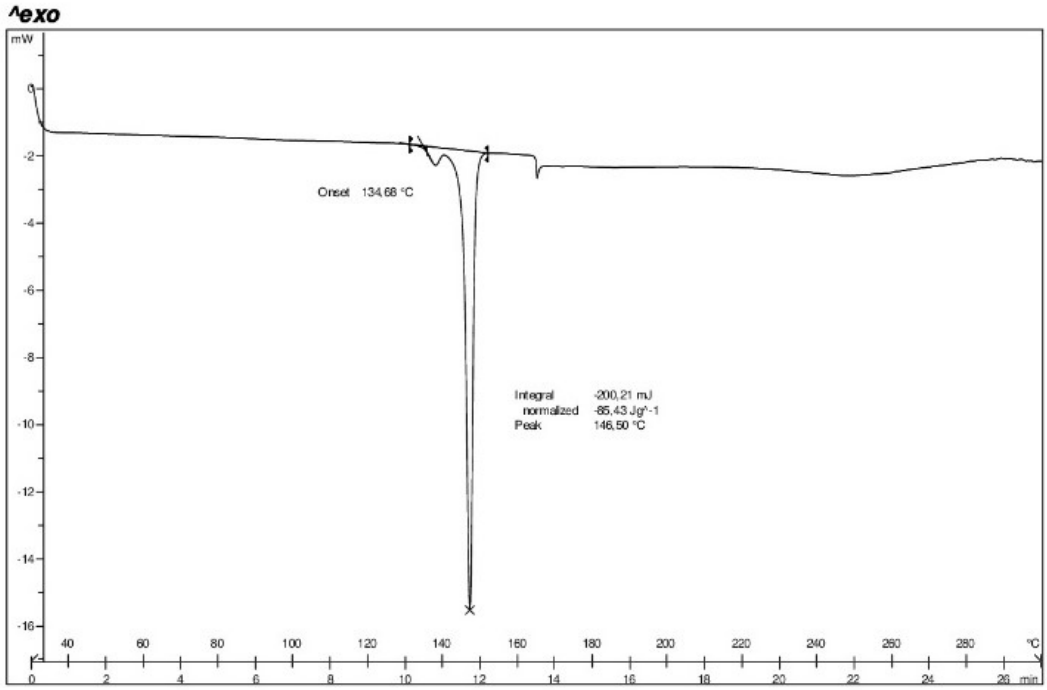


Figure S48: TGA of SIL-MEG

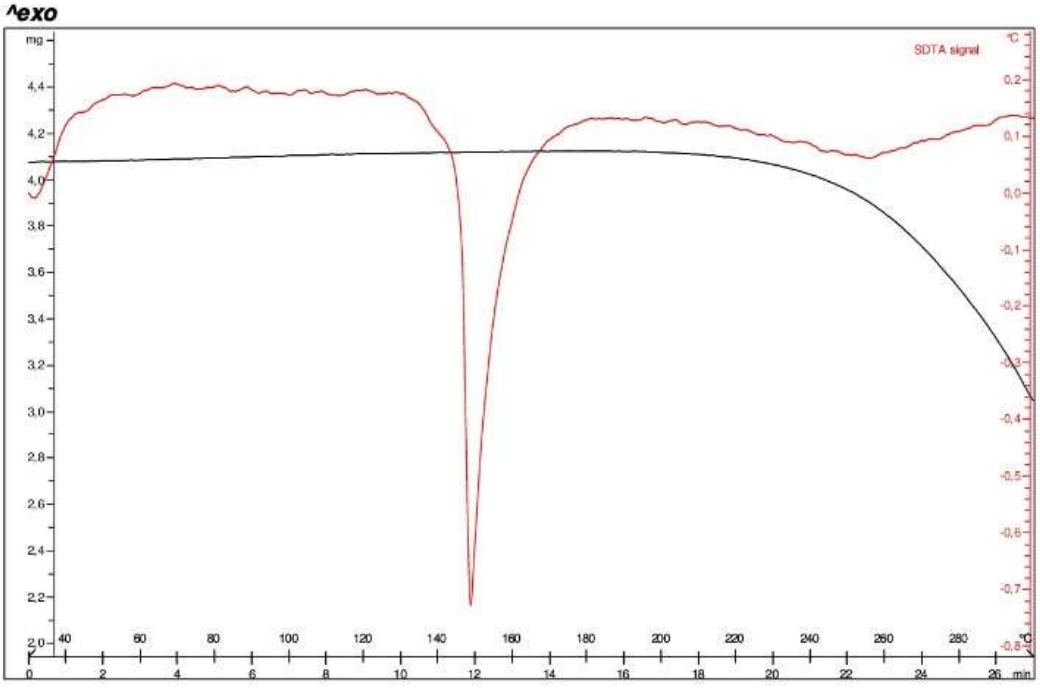


Figure S49: The XRPD of Form SIL-MEG I has been indexed with the following proposed triclinic cell: a=12.9869(8) Å, b=13.4289(8) Å, c=13.4551(8) Å, α = 53.033(3)°, β= 118.580(4)°, γ= 111.246(4)°, V=1637.1(1) Å^3 (Figures of Merit: M= 98, F= 328), a *P*-1 space group is compatible with the cell.

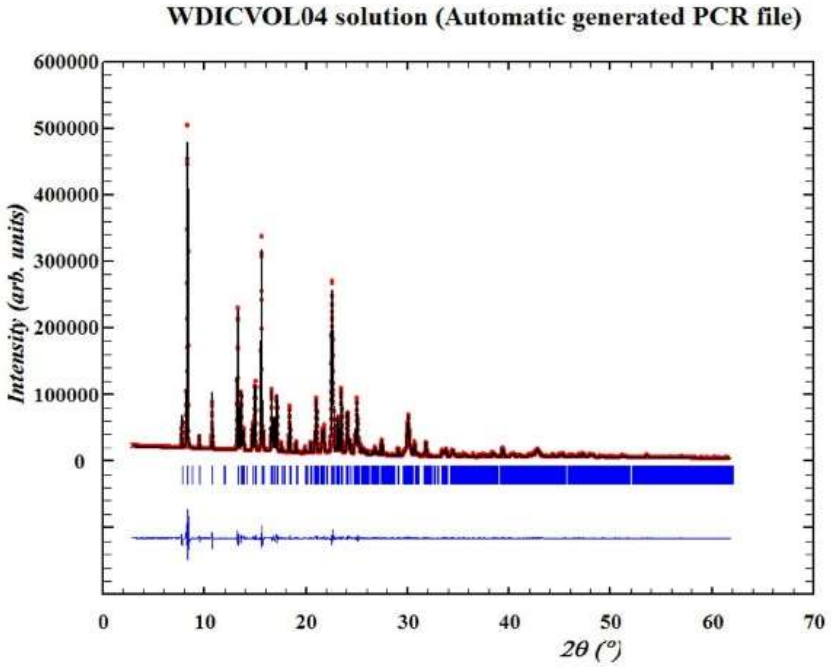


Figure S50: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of SIL-MEG

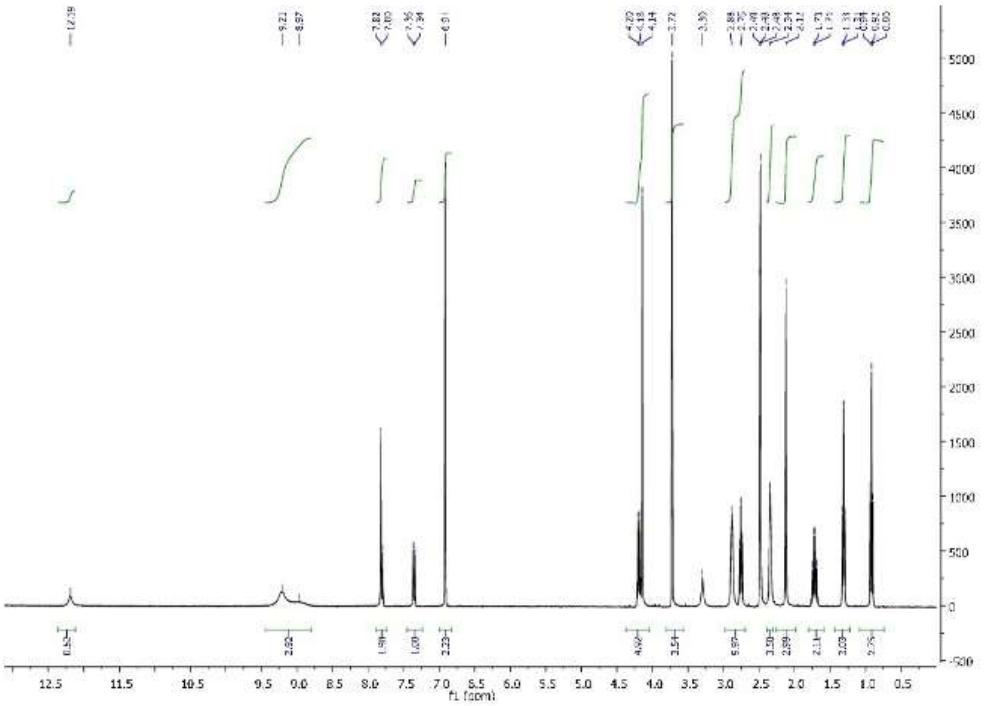


Figure S51: DSC of Form SIL-3-HBA I

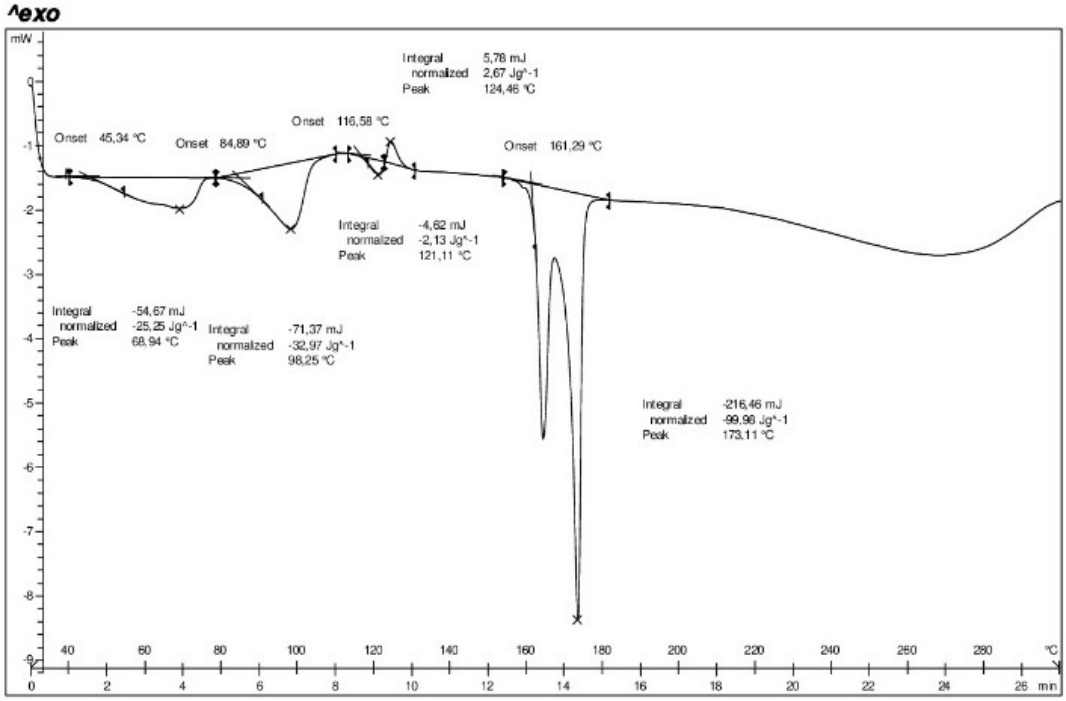


Figure S52: TGA of Form SIL-3-HBA I

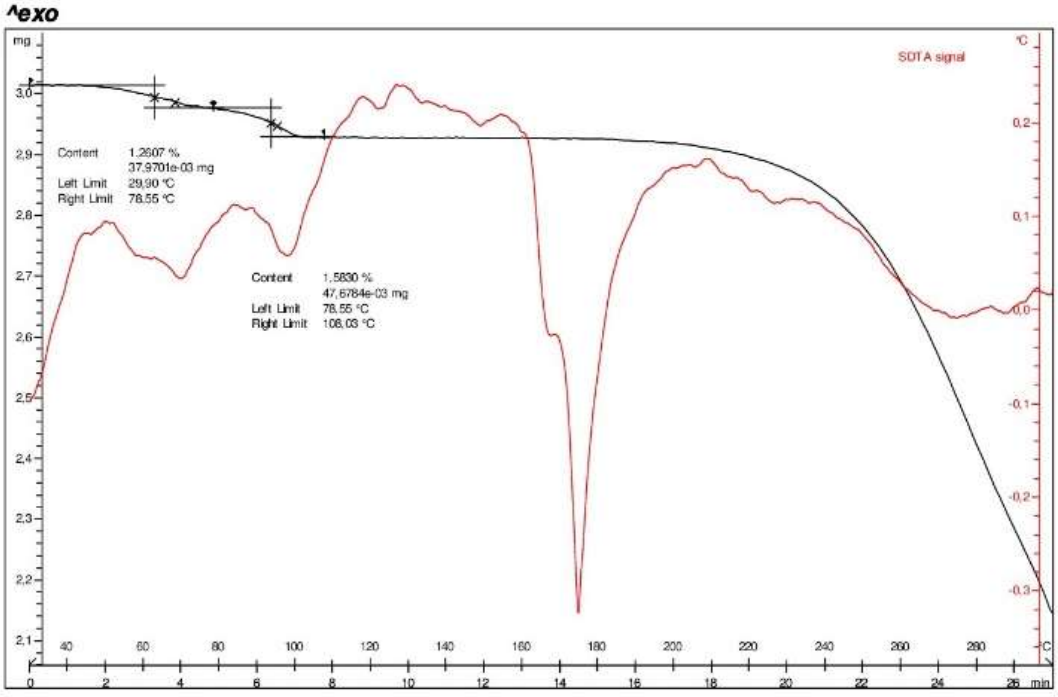


Figure S53: PXRD of Form SIL-3-HBA I

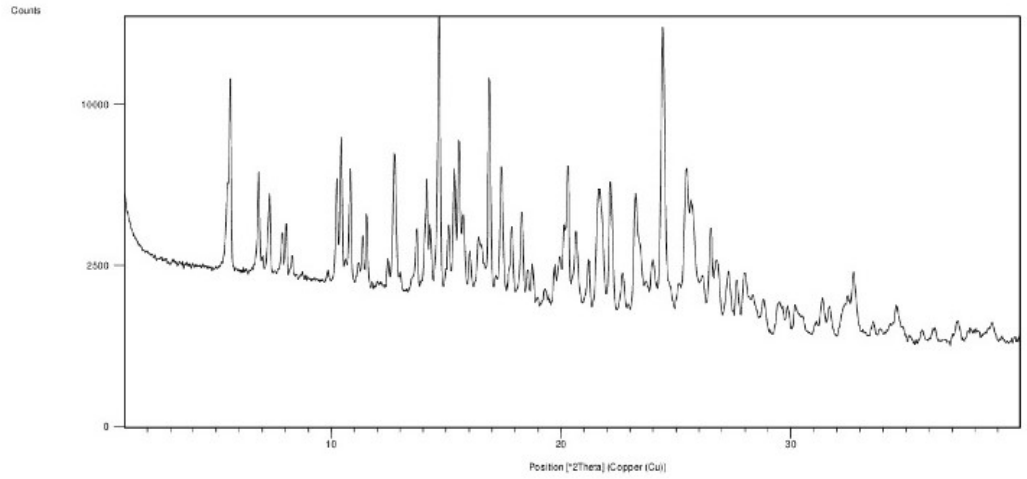
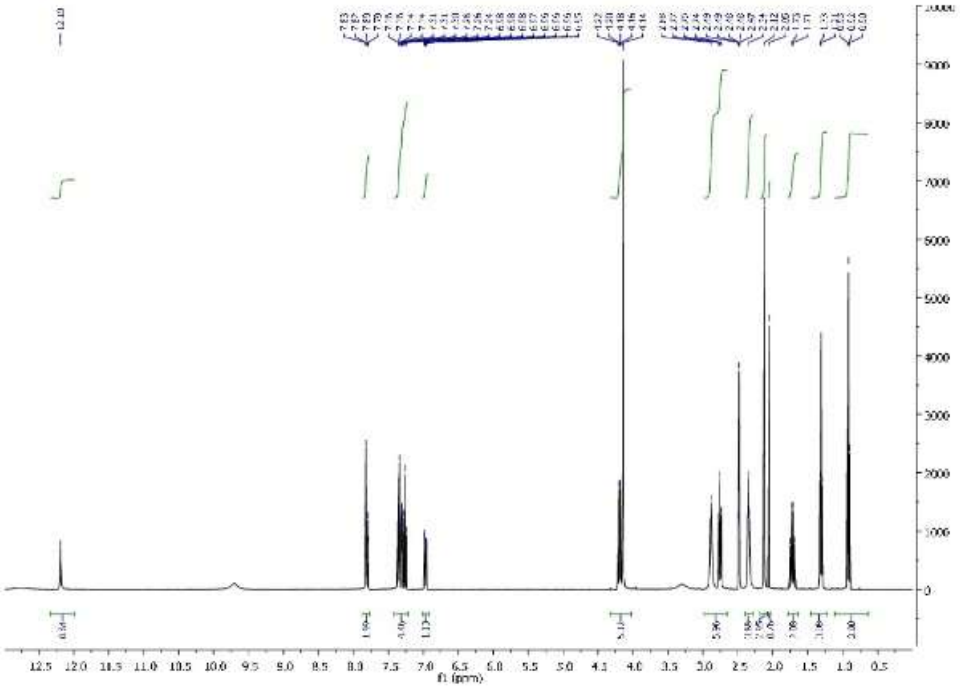


Figure S54: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-3-HBA I



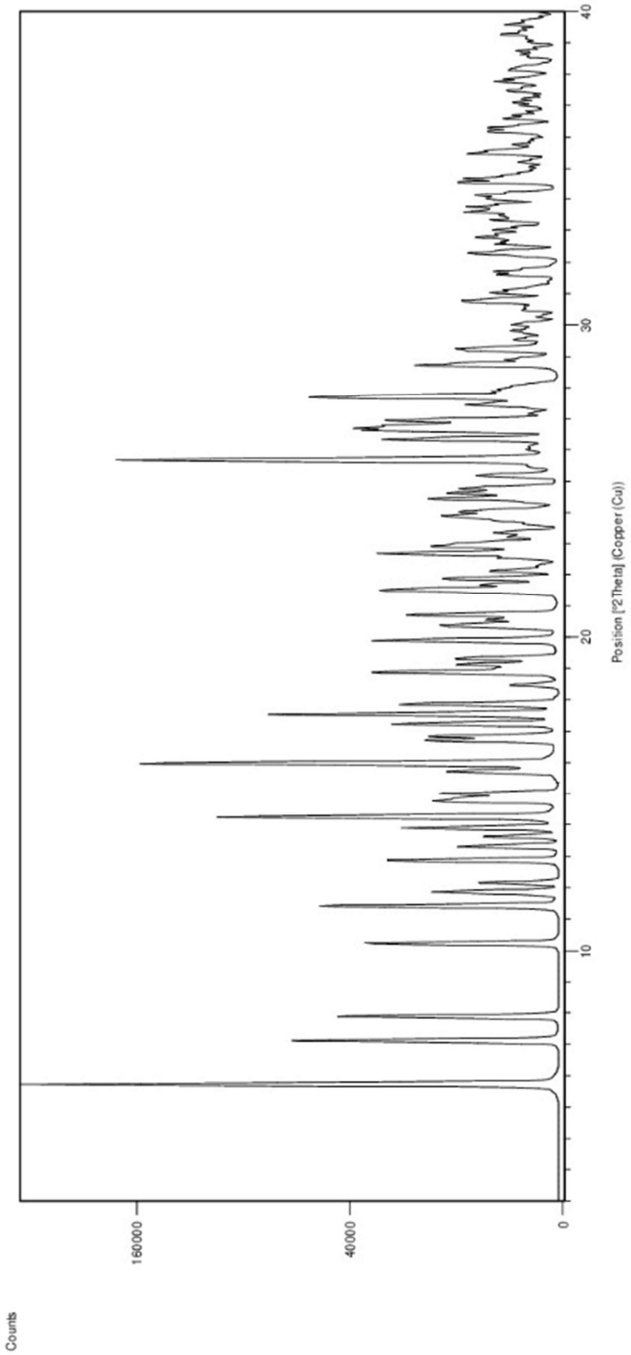


Figure S55: Simulated PXRD of Form SIL-3-HBA II

Figure S56: DSC of Form SIL-3-HBA III

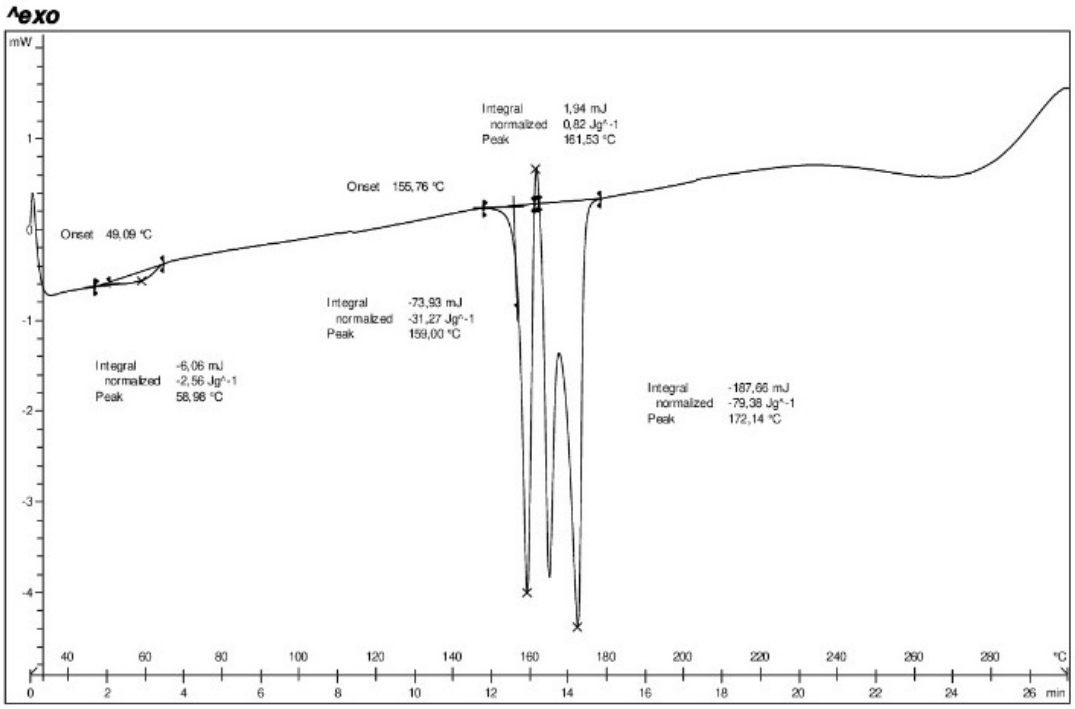


Figure S57: TGA of Form SIL-3-HBA III

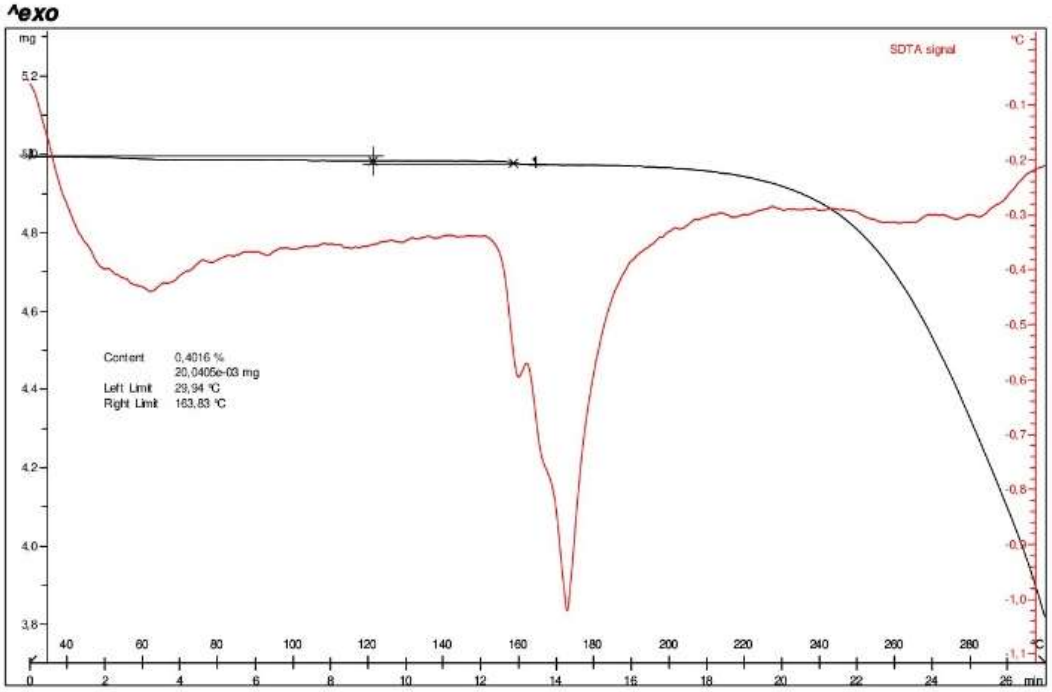


Figure S58: PXRD of Form SIL-3-HBA III

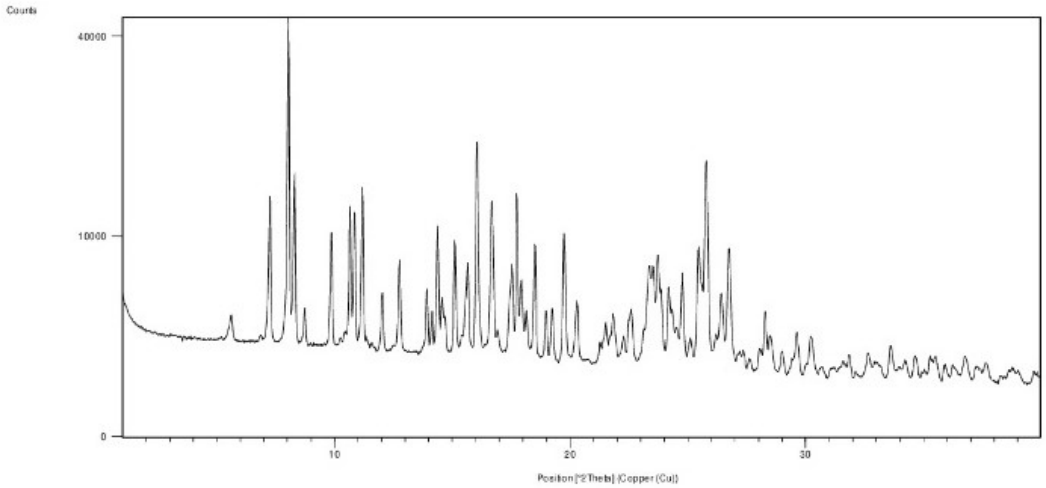


Figure S59: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 32) of Form SIL-3-HBA III

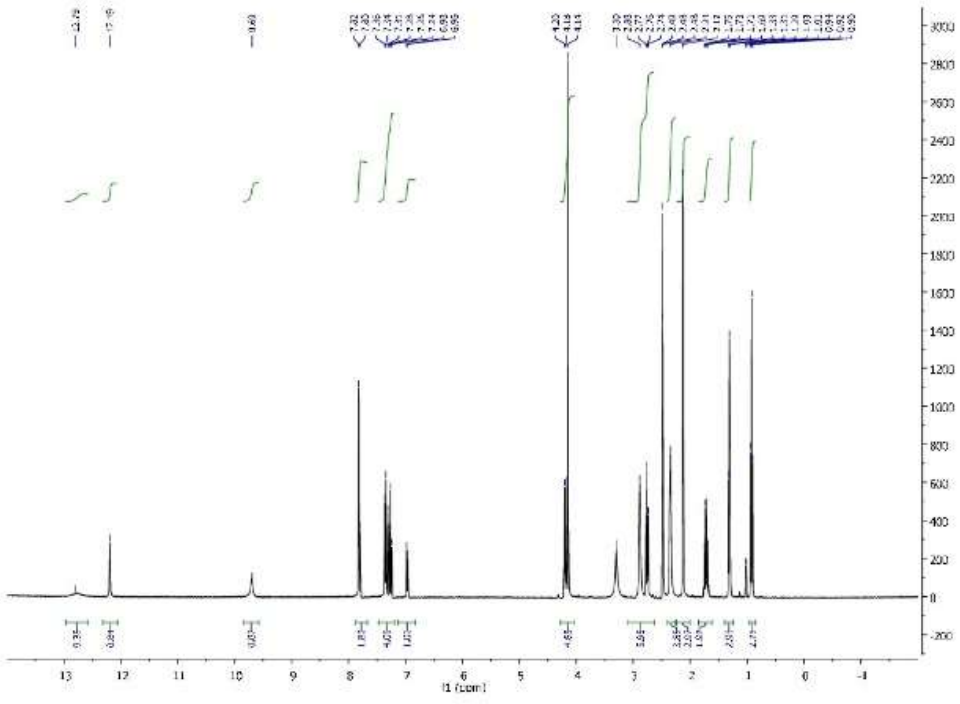


Figure S60: Simulated PXRD of Form SIL-3-HBA IV

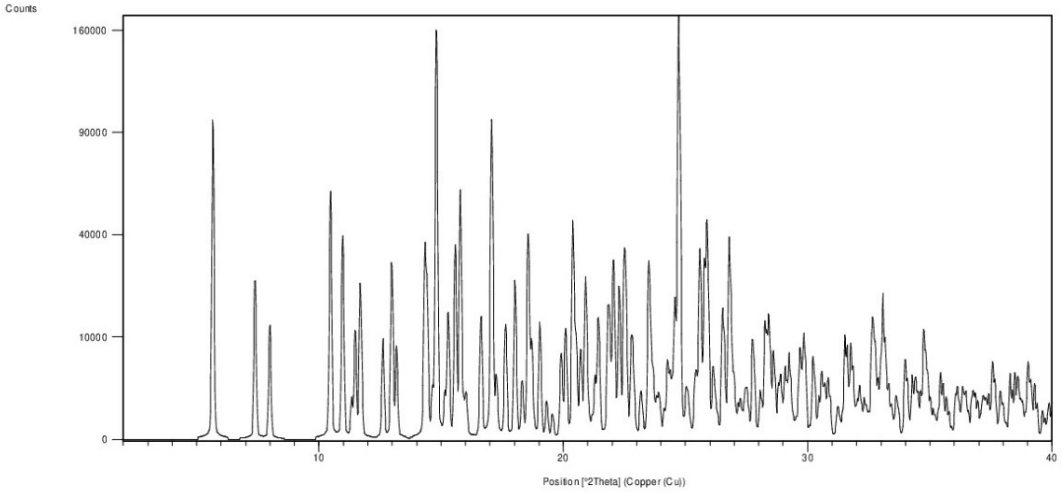


Figure S61: PXRD of Form SIL-4-HBA I

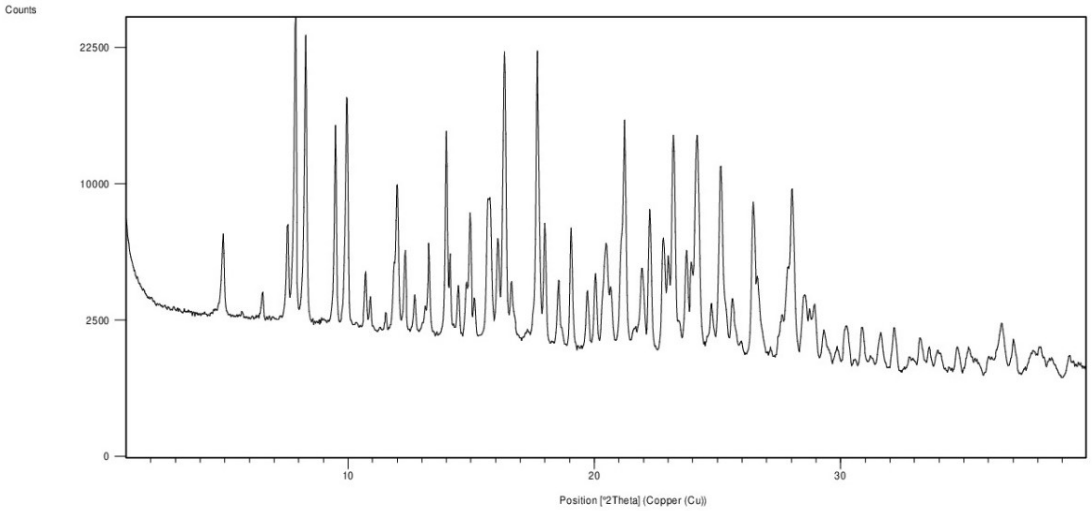


Figure S62: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-4-HBA I

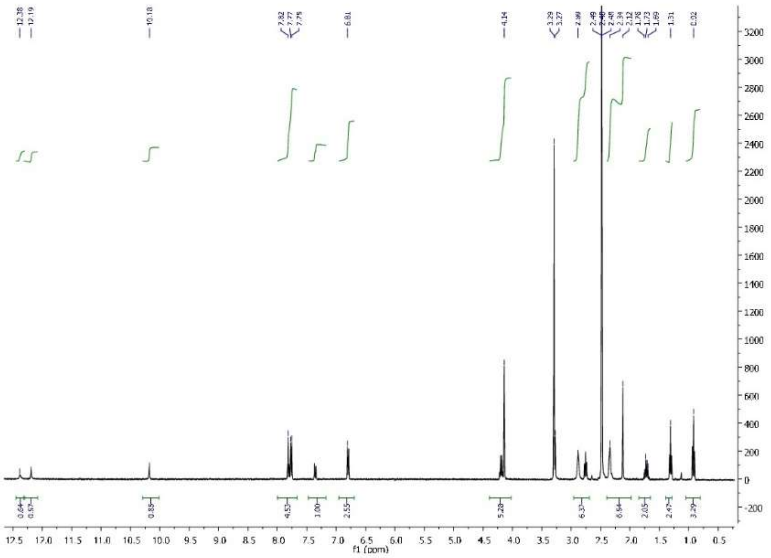


Figure S63: DSC of Form SIL-4-HBA II

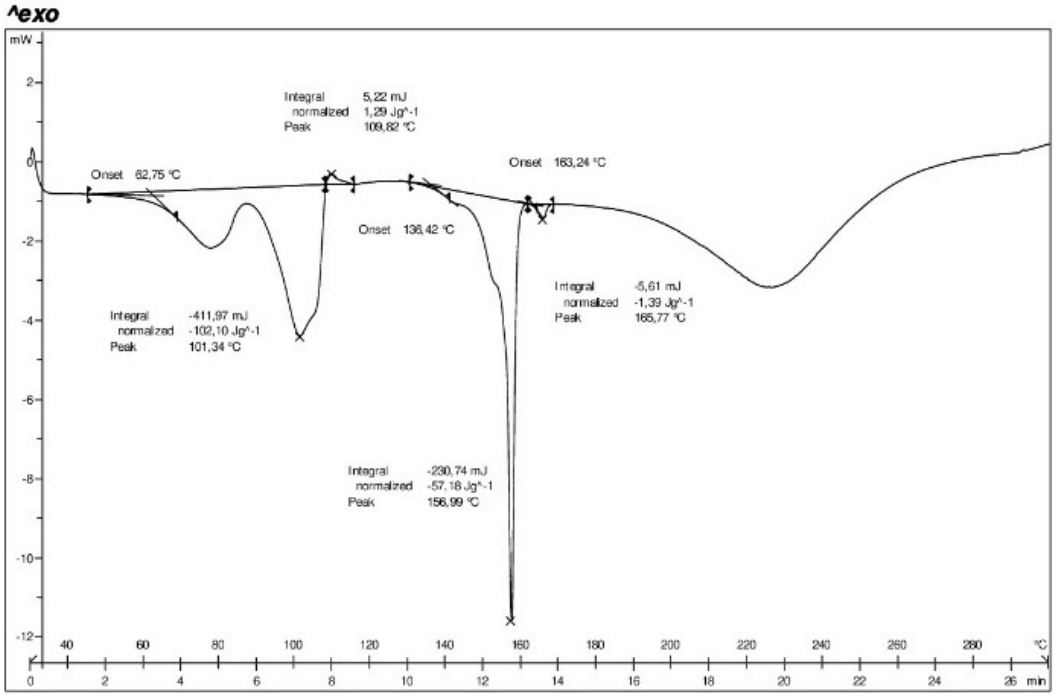


Figure S64: TGA of Form SIL-4-HBA II

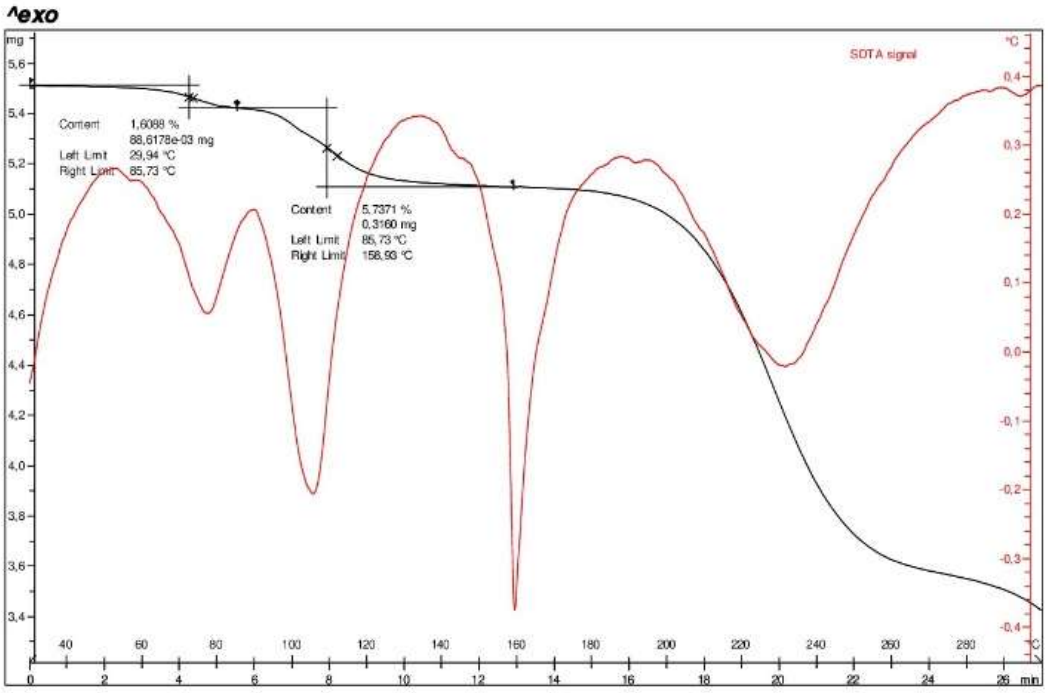


Figure S65: PXRD of Form SIL-4-HBA II

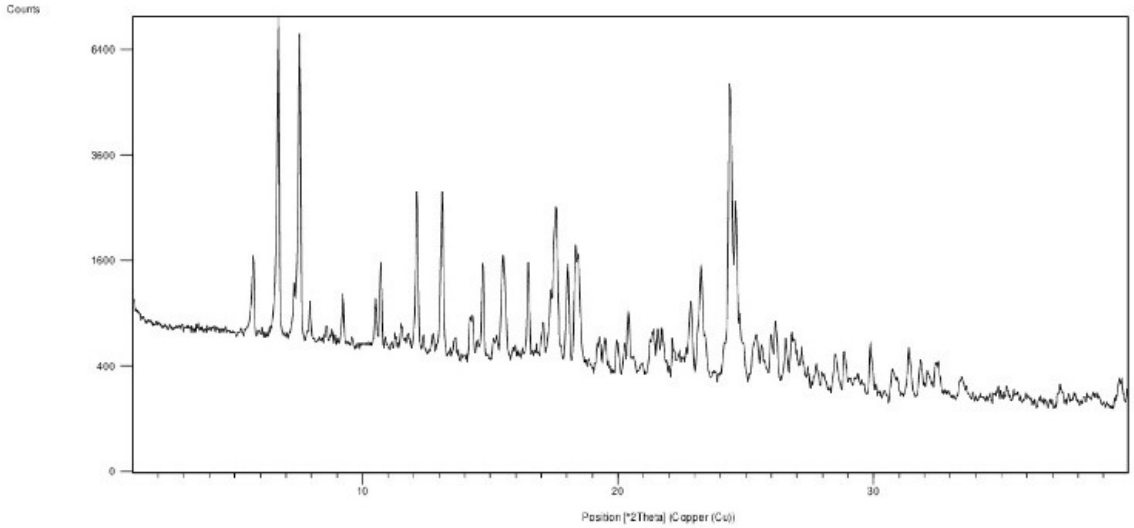


Figure S66: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-4-HBA II

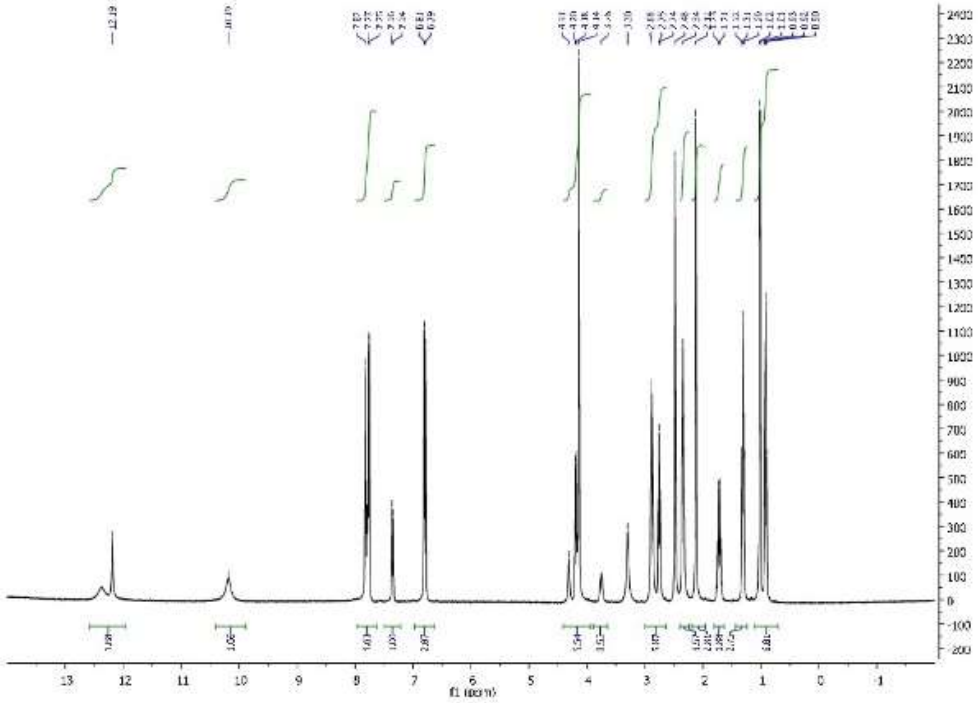


Figure S67: DSC of Form SIL-4-HBA III

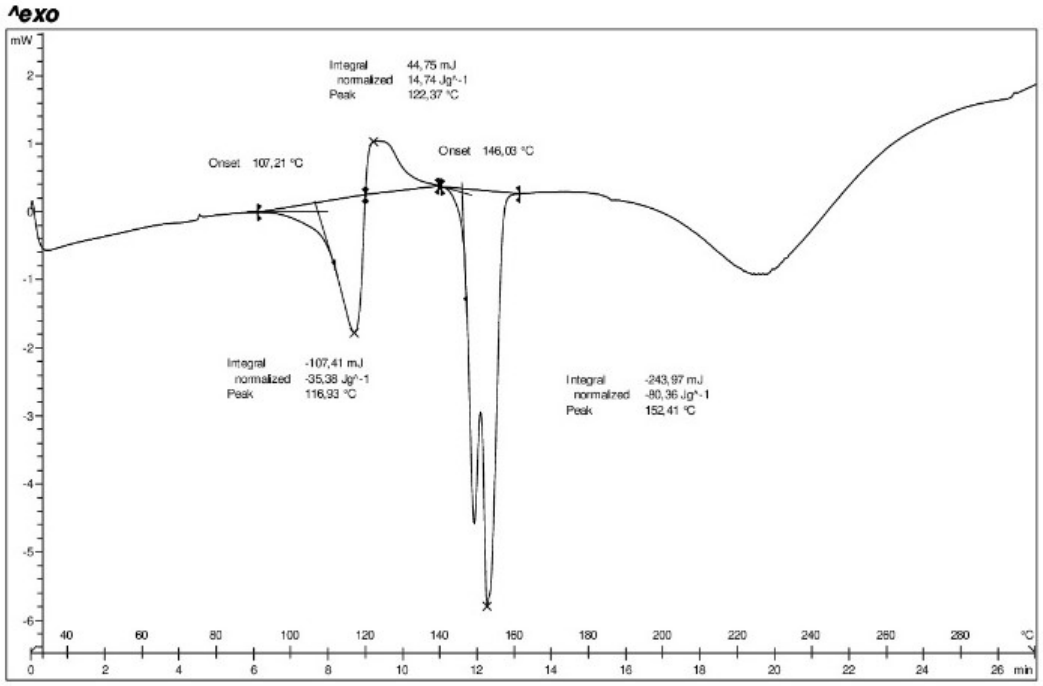


Figure S68: TGA of Form SIL-4-HBA III

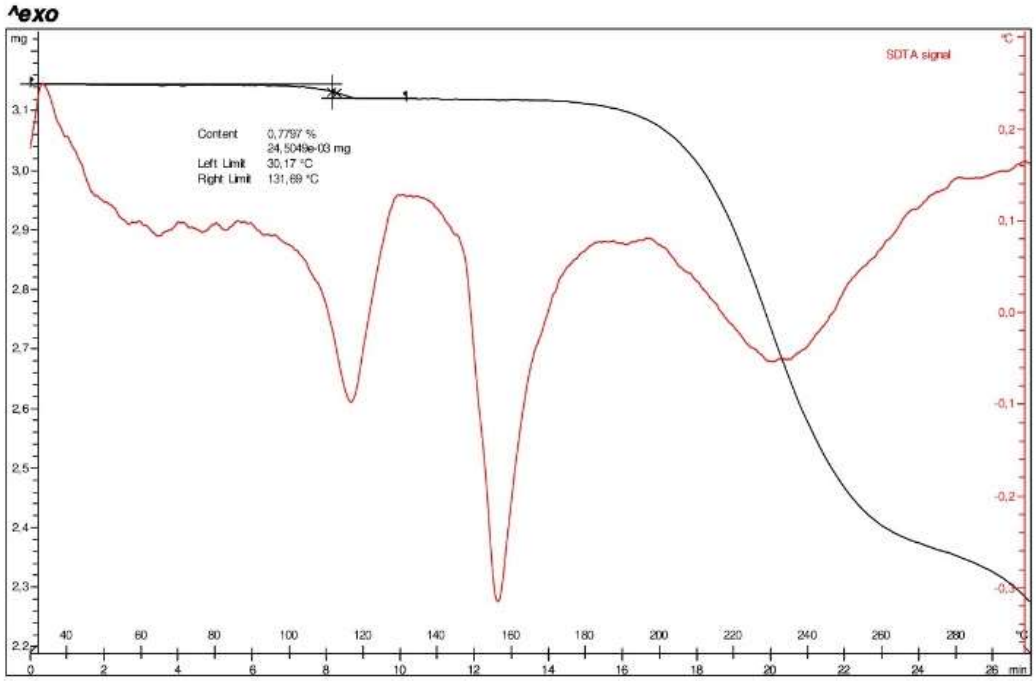


Figure S69: PXRD of Form SIL-4-HBA III

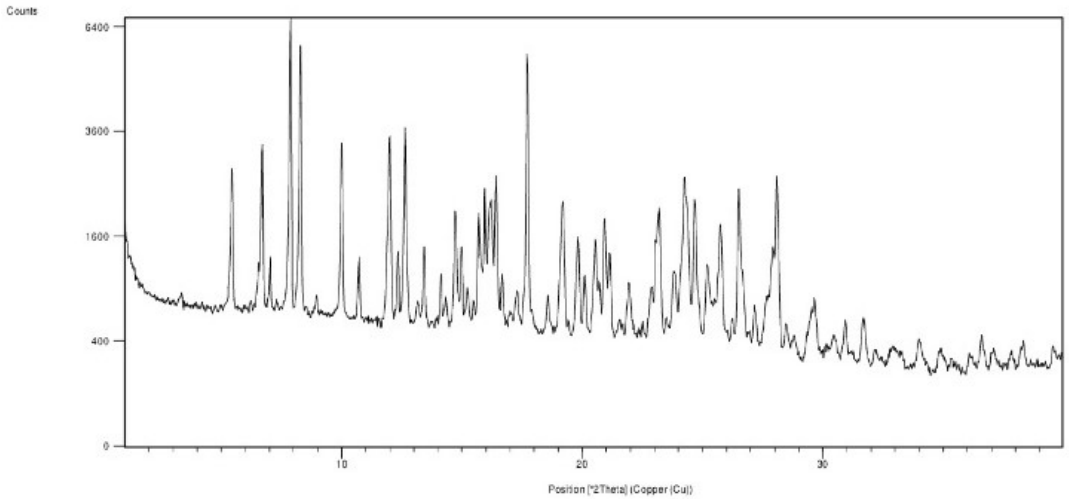


Figure S70: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-4-HBA III

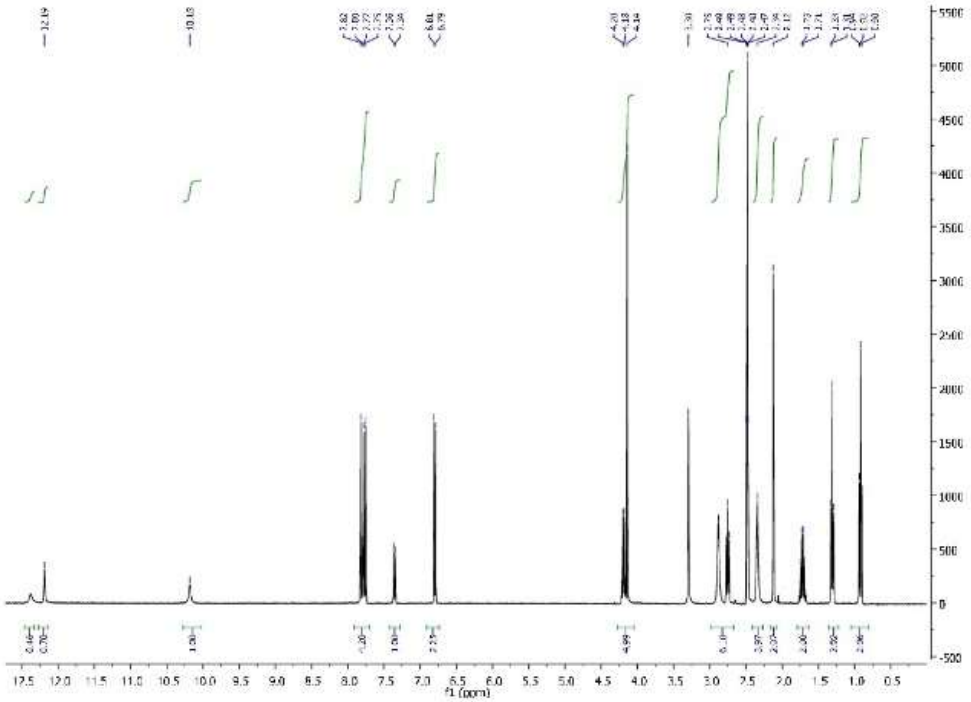


Figure S71: DSC of Form SIL-4-HBA IV

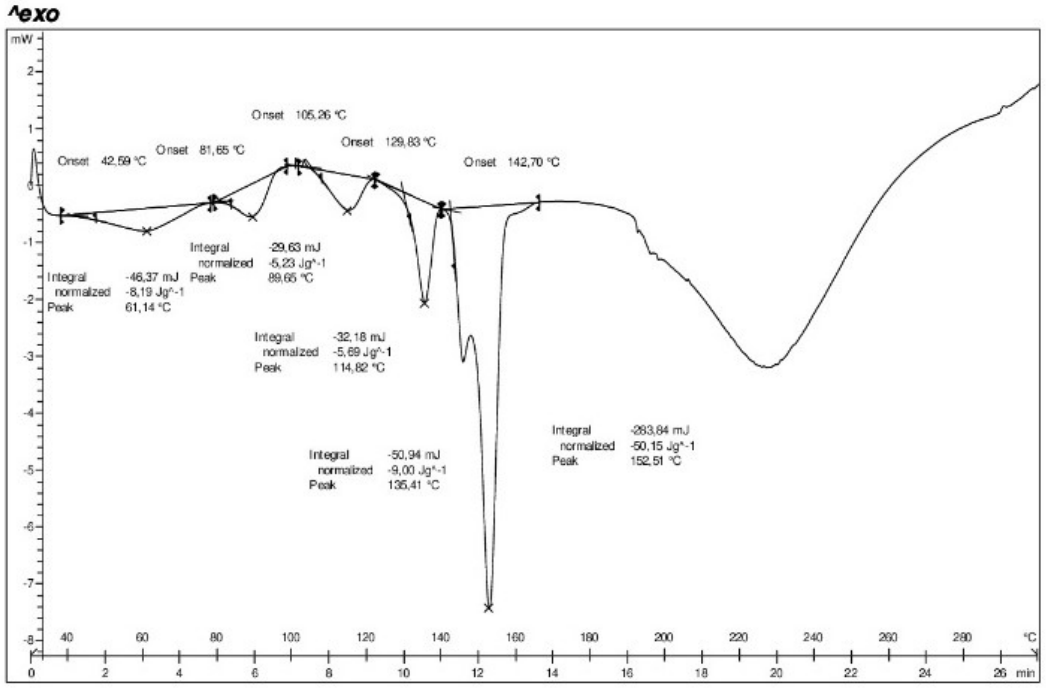


Figure S72: TGA of Form SIL-4-HBA IV

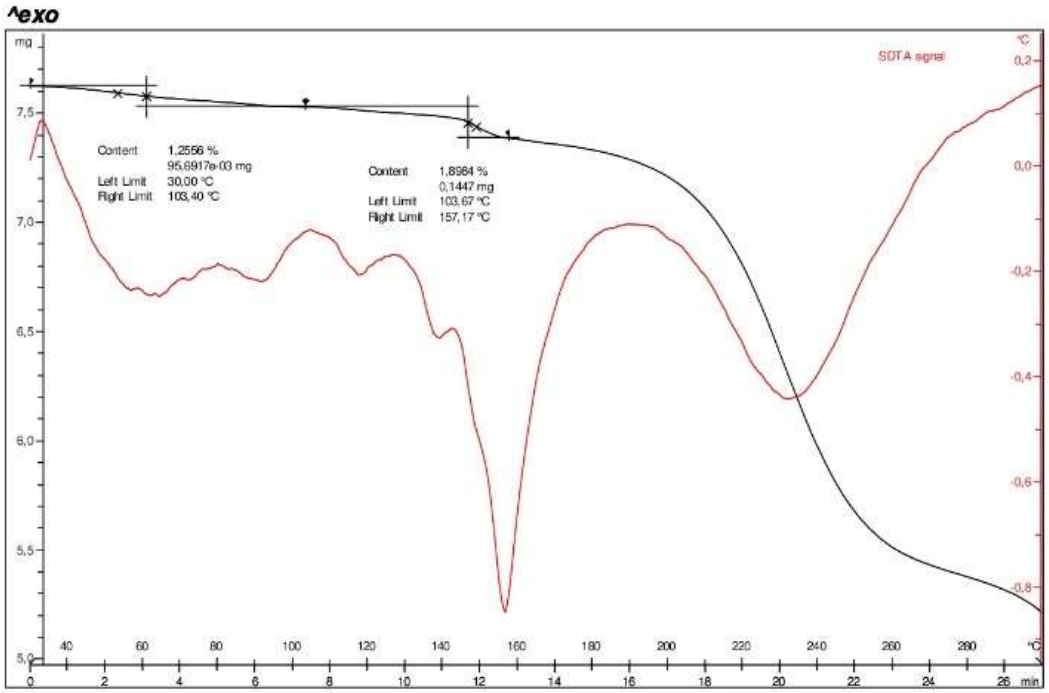


Figure S73: PXRD of Form SIL-4-HBA IV

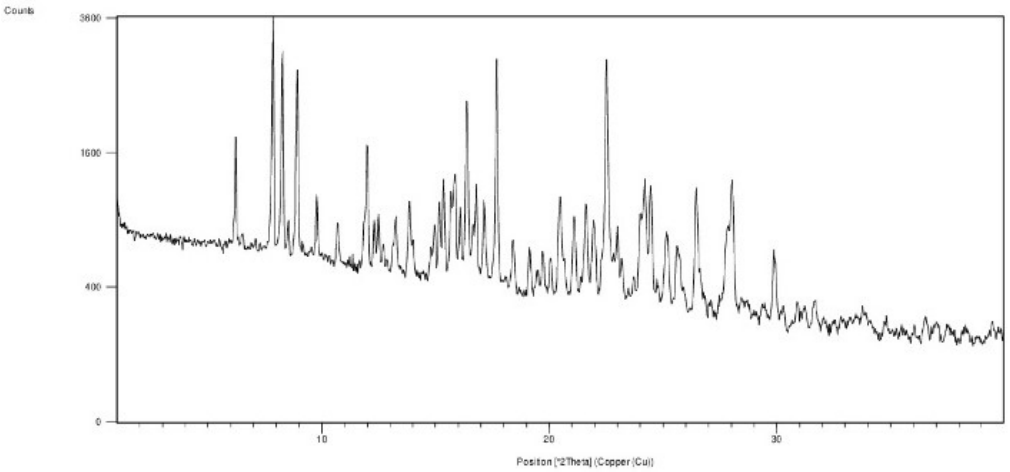
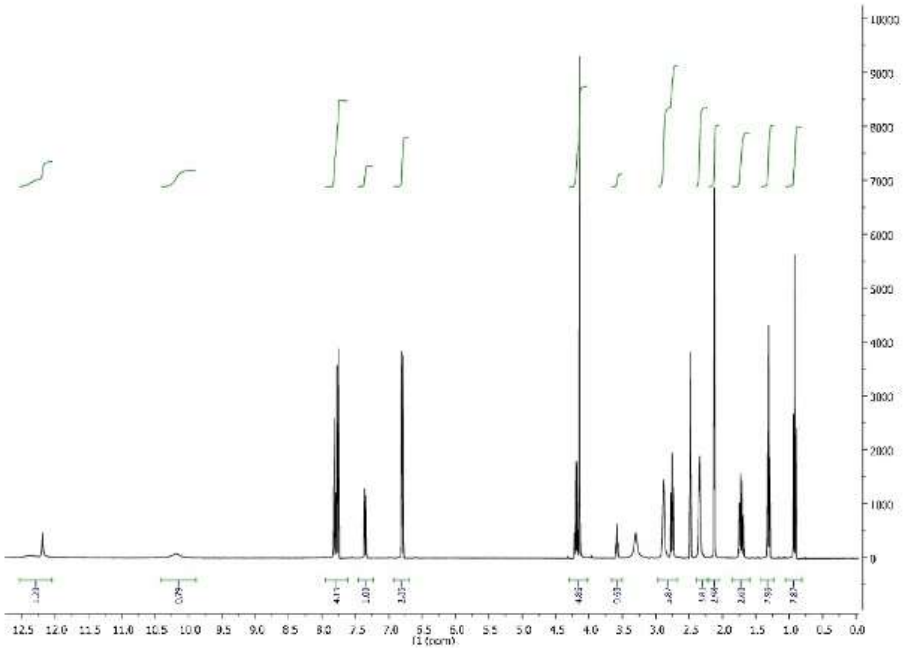


Figure S74: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of Form SIL-4-HBA IV



5.- Dissolution study

5.1. Buffers and media

Solubility studies for sildenafil, its salts, cocrystals and hybrid salt-cocrystals were carried out in following solvents:

0.1M HCl (pH 1.2)

To prepare 0.1 M HCl accurately measured 8.33 mL of conc. HCl were taken into 1 L glass bottle and volume was made up to 1000 mL with distilled water.

Fasted State Simulated Intestinal and Stomach Fluids (FaSSIF)

- *Step 1*: Phosphate buffer needed for FASSIF was prepared by dissolving 0.42 g of NaOH, 3.95 g of $NaH_2PO_4 \cdot H2O$ (monohydrate) and 6.19 g of NaCl in 900 mL of distilled water pH was adjusted to 6.5 using NaOH (1N) or HCl (1N) and volume were made up to 1 L using distilled water.

-*Step 2*: Add 2.24 g FaSSIF powder in 500 mL of buffer at room temperature, stir until powder has dissolved, make up to the volume 1 L with buffer

Note: According to standard procedure FaSSIF was kept at room temperature for 2 hrs. FaSSIF became slightly opalescent and then it was used for the study.

Buffer pH 6.5 (0.1M Phosphate buffer)

Accurately weighed 13.80 g of $NaHPO_4 \cdot H_20$ was dissolved in 900 mL of distilled water. pH of the solution was adjusted to 6.5 using NaOH (1N), final volume was made to 1 L using distilled water.

5.2. Procedure

Dissolution studies were carried out in 7 mL elongated vials with media volume of 1 mL for all the experiments. All the dissolution experiments were carried out at 25 °C. The volume of media for solubility studies were 1 mL sufficient to cover magnetic bead to aid good stirring during study. Dissolution study were carried out at four time points which are 1hr, 2hr, 4hr and 24hr. For initial time points 1hr, 2hr and 4hr sample amount used for sildenafil, its cocrystals and physical mixtures were 10±2mg and for 24hr solubility study sample amount was 40mg±2mg.

At timely intervals the samples were taken out and filtered with 0.45µL syringe filter into a clean glass vial. Dilutions were carried out if needed with the same media which is used for dissolution study. The samples taken at various time intervals were analysed by HPLC.

5.3. HPLC method

HPLC method was developed for the analysis of the dissolution of the sildenafil, its salts, cocrystals and hybrids salt-cocrystals when dissolution media is 0.1 M HCl, Buffer pH 6.5 and FaSSIF.

- Column: C18 Luna NH_2 100A°, dimensions of 4.6× 150 mm with 5 um particle size.

- Solvent system: USP buffer pH 3 (58): Methanol (25%): Acetonitrile (17)
- Buffer preparation: Buffer was prepared according to the method suggested in USP monograph for Sildenafil citrate. Buffer was prepared by adding 7mL of triethylamine 900 mL of distilled water and pH was adjusted to 3 using phosphoric acid. Final volume was made to 1 L.
- Injection volume: 20 µL
- Flow rate: 1 mL/min.
- Wavelengths: 290 nm
- Standard solution: 10µg/mL
- Run time: 15 min.

5.4. Results

5.4.1 Sildenafil analysis by HPLC method

The solubility analysis for sildenafil, its salts, cocrystals and hybrid salt-cocrystals in the media 0.1 M HCl, Buffer pH 6.5 and FaSSIF were analysed by HPLC method. All the calculations for the amount of sildenafil present at each time point were calculated using known concentration of sildenafil and its standard HPLC area.

The amount for the sildenafil was calculated by following equation:

$$Conc.of\ sample = (Area\ of\ sample \div Area\ of\ standard) conc.of\ standard$$

HPLC method was able to separate chromatograms for sildenafil and coformers quercetin, 3,4-dihydroxybenzoic acid, resorcinol and 3-hydroxybenzoic acid. Figure S75 shows well eluted individual and well separated chromatograms for sildenafil at 1.5 min and for quercetin at 3.4 min, respectively. In similar manner Figure S76 shows well eluted and separated chromatogram for sildenafil at 1.5 min and for 3,4-dihydroxybenzoic acid at 9.3 min, respectively. Figure S77 shows separate chromatogram for sildenafil at 1.5 min and for resorcinol at 2.2 min, respectively. Similar way Figure S78 shows separate chromatogram for sildenafil and 3-hydroxybenzoic acid. Sildenafil elution at 1.5 min and for 3-hydroxybenzoic acid at 3.5 min, respectively.

Figure S75: Comparative solubility of SIL salts, cocrystals and hybrid salt-cocrystals in 0.1N HCl (pH 1.2)

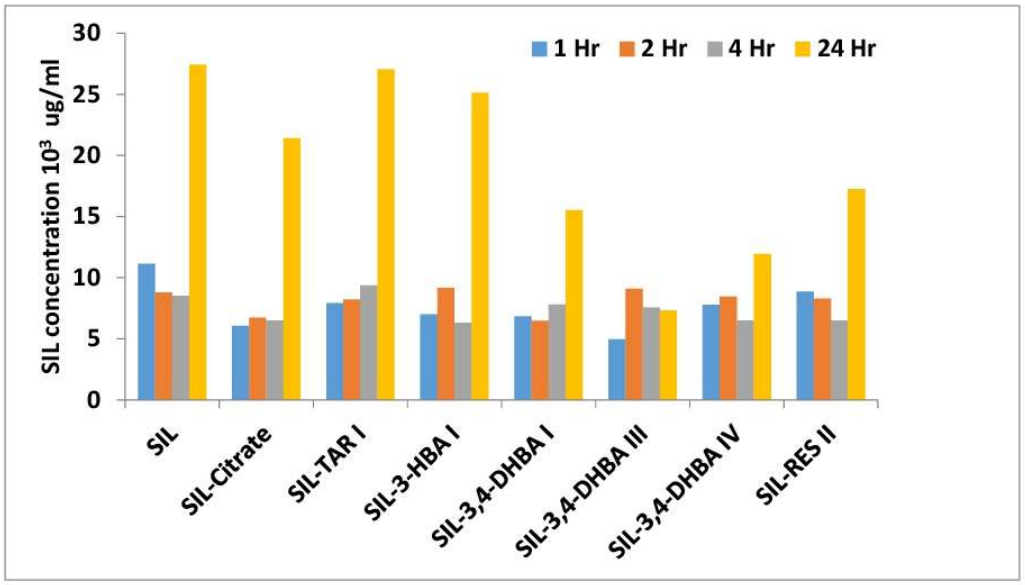


Figure S76: Comparative solubility of SIL salts, cocrystals and hybrid salt-cocrystals in phosphate buffer pH 6.5

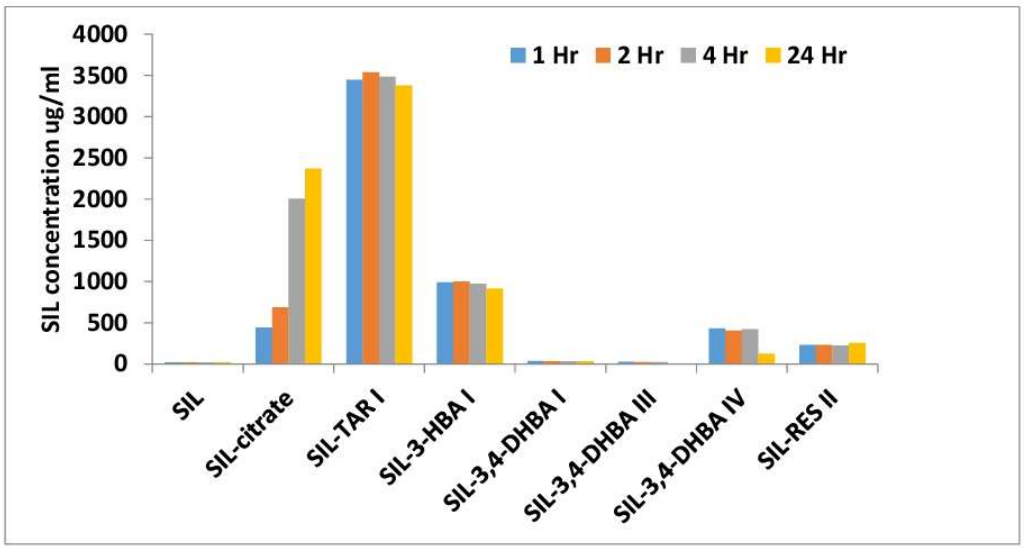


Figure S77: Comparative solubility of SIL salts, cocrystals and hybrid salt-cocrystals in FaSSIF

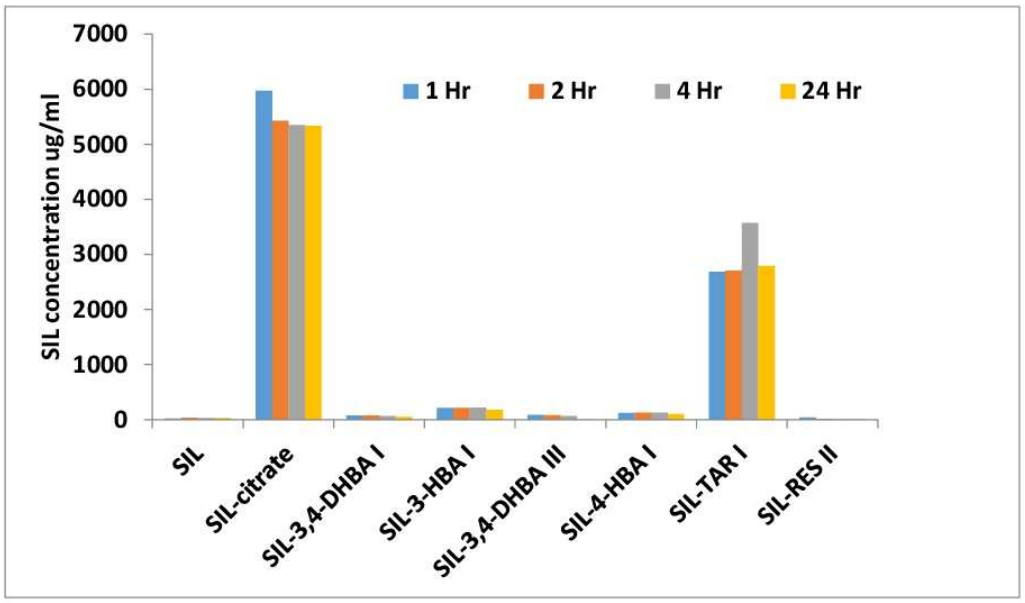


Figure S78: Chromatogram for sildenafil and quercetin by HPLC method

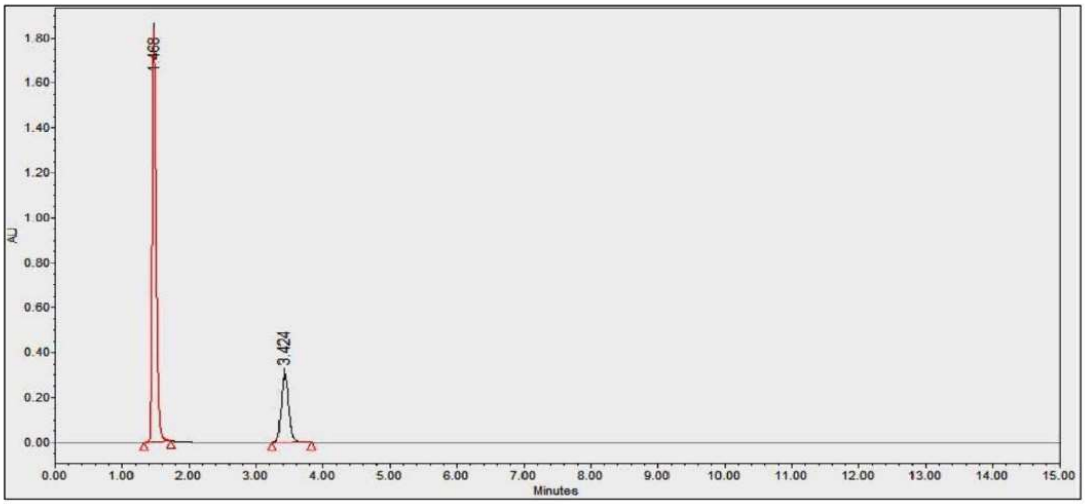


Figure S79: Chromatogram for sildenafil and 3,4-dihydroxybenzoic acid by HPLC method

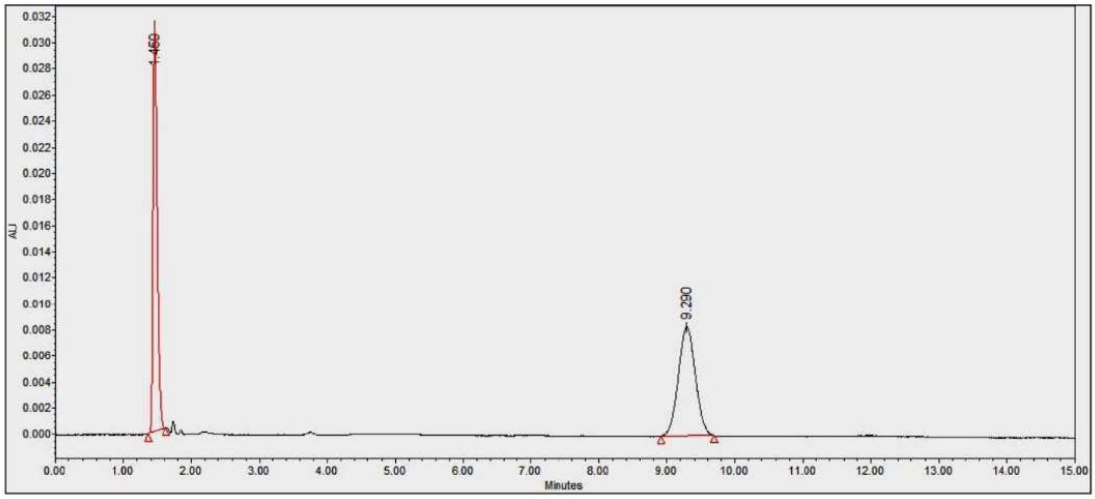


Figure S80: Chromatogram for sildenafil and resorcinol by HPLC method

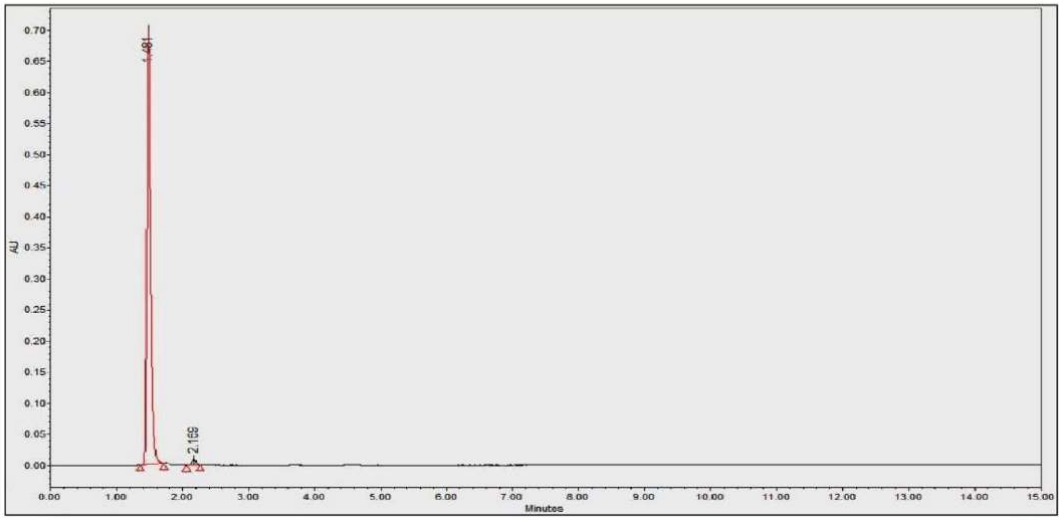
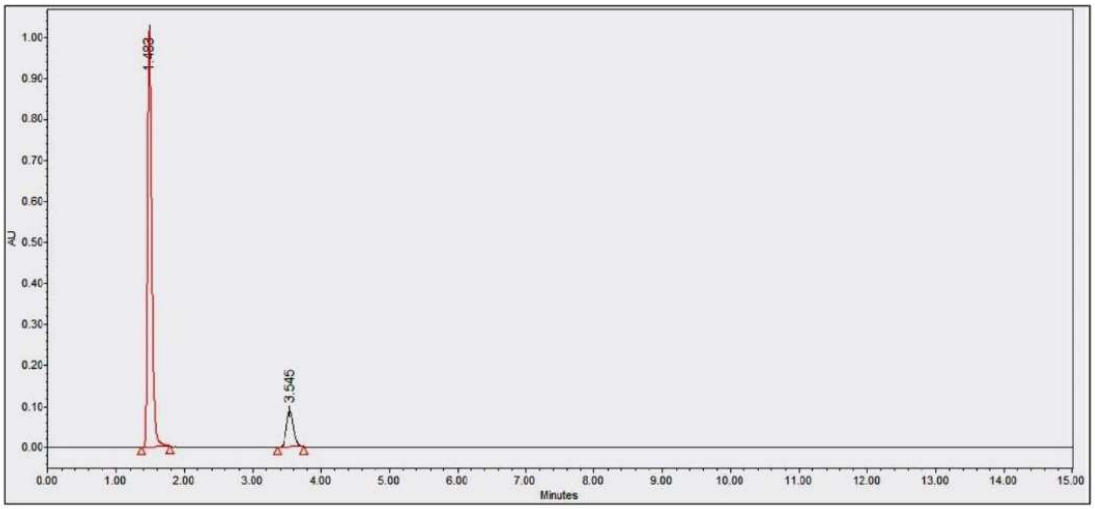


Figure S81: Chromatograms for sildenafil and 3-hydroxybenzoic acid by HPLC method



APÈNDIX D. MATERIAL SUPLEMENTARI ARTICLE 4

Supporting information

H-Bonded anion–anion complexes in fentanyl citrate polymorphs and solvates

Chemical Communications, **2019**, 55, 115-118

Rafael Barbas,[1] Rafel Prohens,[1,2] Antonio Bauzá,[3]
Antonio Franconetti[3] and Antonio Frontera[3]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain.*

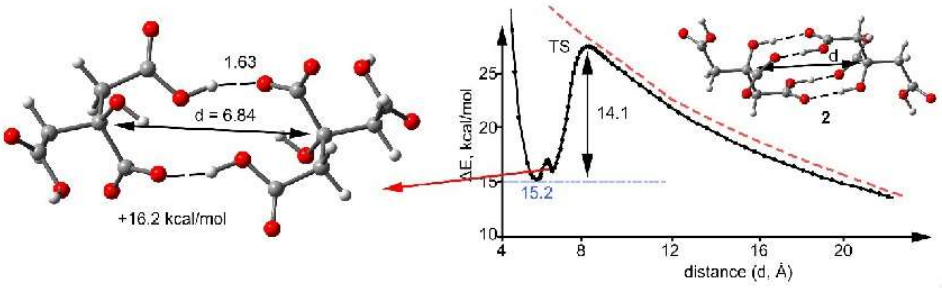
[3] *Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma (Baleares), Spain.*

1. Theoretical Methods

The energies of the anion···anion complexes included in this study fully optimized using the PBE0-D3/def2-TZVP level of theory by means of the program TURBOMOLE version 7.0.[1] The minimum nature of the complexes has been verified by performing frequency calculations. To evaluate the interactions in the solid state, we have used the crystallographic coordinates at the PBE0-D3/def2-TZVP level of theory. This level of theory includes Grimme's correction for dispersion.[2]

Each relaxed scan shown in Figure 5 (see main text) was obtained by varying the C···C distance (d) marked in the figure starting from the value of d at the local minimum, which is d = 3.848 for **1** and d = 6.043 for **2**. We have progressively increased this initial distance by using steps of 0.1 Å until d ≈ 9Å. Then we have increased the step size to 0.25 Å and finally to 0.5 Å for the final points. Moreover, we have also computed several points reducing the initial distance using steps of 0.1 Å to complete the scan. All calculations have been done at the PBE0-D3/def2-TZVP level of theory and in each point of the scan the geometry has been allowed to relax apart from the C···C distance (d).

The geometry of the second minimum observed in the relaxed scan of compound **2** (Figure 5b) is given below in Scheme S1 (left). All attempts to fully optimize (unfreezing the C···C distance) this local minimum have been unsuccessful since the optimization converges to the more stable local minimum. Therefore, it is not a real minimum in the potential energy surface.



Scheme S1. Structure of the second minimum obtained in the relaxed scan of compound **2**. Distances in Å

In order to investigate the effects of environmental factors on the strength and directionality of anion···anion complexes we have used the PBE0-D/def2-TZVP method along with the C-PCM implicit solvent model to mimic the crystal environment.[3]

The C-PCM dielectric constant used for all calculations here is 4.33, corresponding to the dielectric constant of diethyl ether, since it has been recommended to study the effects of the environment on the energetic and geometric attributes of the charged systems.[3]

The NCIplot[4] isosurfaces have been used to characterize noncovalent interactions. They correspond to both favorable and unfavorable interactions, as differentiated by the sign of the second density Hessian eigenvalue and defined by the isosurface color. The color scheme is a red-yellow-green-blue scale with red for ρ^{+}_{cut} (repulsive) and blue for ρ^{-}_{cut} (attractive).

2. Figure S1

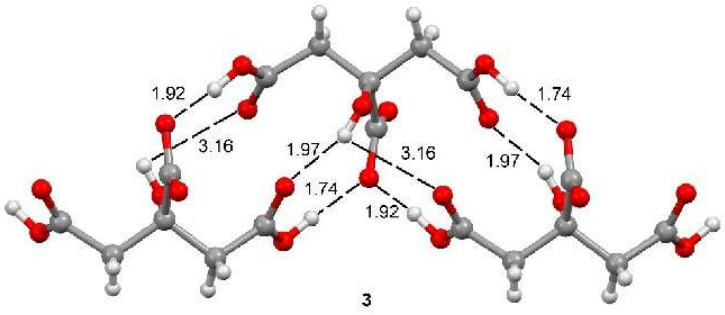


Fig. S1. Partial view of the X-ray solid state of compound **3** (distances in Å)

3. Cartesian Coordinates

Model of compound 1

O	-1.0705174	1.1126569	0.9533517
H	-0.2329092	0.5603242	0.9998705
O	-1.1616011	0.2816436	-1.1114235
O	-4.3560286	0.1718505	0.5616412

H	-5.1280719	0.6292298	0.9743368
O	-5.1259154	-1.5709292	-3.0747565
H	-5.9616134	-2.0457969	-3.1714404
O	-6.4309299	-0.6268483	-1.5383885
O	-6.0082752	2.0824232	0.4644900
O	-5.3862156	2.7917666	-1.5893474
C	-1.6316370	0.9906346	-0.2260975
C	-2.8710111	1.8098177	-0.4094819
H	-2.7522772	2.4226222	-1.3060051
H	-2.9919431	2.4635320	0.4541366
C	-4.1760523	0.9943632	-0.5570904
C	-4.1547575	0.1830413	-1.8431712
H	-4.1078022	0.8817547	-2.6855176
H	-3.2679955	-0.4507877	-1.9051834
C	-5.3601850	-0.6690598	-2.0756177
C	-5.3255733	2.0714632	-0.5830249
O	1.0632325	-1.1255856	-0.9184901
H	0.2278473	-0.5701118	-0.9665863
O	1.1591715	-0.2870829	1.1431295
O	4.3440966	-0.2016683	-0.5682600
H	5.1102855	-0.6685305	-0.9817993
O	5.1303637	1.6487421	2.9751895
H	5.9665068	2.1265885	3.0515516
O	6.4460950	0.6141627	1.5079928
O	5.9923069	-2.1136214	-0.4590935

O	5.3881853	-2.7930947	1.6102241
C	1.6263298	-1.0002911	0.2595538
C	2.8646705	-1.8205634	0.4442410
H	2.7539281	-2.4176509	1.3521697
H	2.9753533	-2.4885262	-0.4098603
C	4.1733389	-1.0061946	0.5648343
C	4.1673417	-0.1741766	1.8382750
H	4.1457044	-0.8621119	2.6908682
H	3.2758111	0.4515994	1.9078706
C	5.3705778	0.6906174	2.0318471
C	5.3201655	-2.0862019	0.5950615

Model of compound 2

H	-1.1119545	1.7535419	0.0481923
O	-1.2977078	6.0595635	0.9087692
O	-0.6132077	5.2830803	-1.0582077
H	-1.3618219	5.8361485	-1.3142975
O	-0.9571736	2.6067826	0.5010508
O	0.3086167	0.1621761	2.1830424
H	0.0785891	-0.8328062	2.0019735
O	1.5811576	-0.0032124	0.3526171
O	0.3218760	2.2380338	-1.9014087
O	2.0818271	3.4341179	-1.2072939
C	-0.5716645	5.3230794	0.2796341
C	0.4710418	4.4285865	0.8714587
H	0.3468459	4.4914818	1.9534812

H	1.4579738	4.8010444	0.5817097
C	0.3879894	2.9697370	0.4013330
C	1.2780676	2.1437105	1.3659871
H	2.3197169	2.3752653	1.1356480
H	1.0405512	2.4350856	2.3918392
C	1.0710977	0.6526226	1.2457528
C	0.9955942	2.8679152	-1.0467755
H	1.1119545	-1.7535419	-0.0481923
O	1.2977078	-6.0595635	-0.9087692
O	0.6132077	-5.2830803	1.0582077
H	1.3618219	-5.8361485	1.3142975
O	0.9571736	-2.6067826	-0.5010508
O	-0.3086167	-0.1621761	-2.1830424
H	-0.0785891	0.8328062	-2.0019735
O	-1.5811576	0.0032124	-0.3526171
O	-0.3218760	-2.2380338	1.9014087
O	-2.0818271	-3.4341179	1.2072939
C	0.5716645	-5.3230794	-0.2796341
C	-0.4710418	-4.4285865	-0.8714587
H	-0.3468459	-4.4914818	-1.9534812
H	-1.4579738	-4.8010444	-0.5817097
C	-0.3879894	-2.9697370	-0.4013330
C	-1.2780676	-2.1437105	-1.3659871
H	-2.3197169	-2.3752653	-1.1356480
H	-1.0405512	-2.4350856	-2.3918392

C -1.0710977 -0.6526226 -1.2457528

C -0.9955942 -2.8679152 1.0467755

4. Experimental methods

4.1. Materials and measurements.

Fentanyl citrate used was of reagent grade and used as received from Kern Pharma (form I). A polymorph screening has been carried out (Table S1) and as a result, four forms have been isolated and characterized: a 1.125 hydrate (Compound **1**) has been obtained by slow crystallization in water after 19 days at 25 °C. Anhydrous form I (Compound **2**) has been obtained by slow crystallization in MEK after 1 day at 25 °C. Toluene solvate (Compound **3**) has been obtained by slow crystallization in a mixture toluene-methanol after 1 day at 25 °C. Anhydrous form II (Compound 4) has been obtained by slurring in toluene (72 h) and dried under vacuum at 25 °C.

4.2 Differential Scanning Calorimetry (DSC). Differential scanning calorimetry analysis were carried out by means of a Mettler-Toledo DSC-822e calorimeter. Experimental conditions: aluminium crucibles of 40 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, heating rate of 10 °C/min. The calorimeter was calibrated with indium of 99.99% purity (m.p.: 156.8 °C; ΔH: 28.47 J/g).

4.3 Thermogravimetric Analysis (TGA). Thermogravimetric analyses were performed on a Mettler-Toledo TGA-851e thermobalance. Experimental conditions: alumina crucibles of 70 μL volume, atmosphere of dry nitrogen with 50 mL/min flow rate, heating rate of 10 °C/min.

4.4 Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Proton nuclear magnetic resonance (1H-NMR) spectra has been recorded on a Varian Mercury 400 (400 MHz). Chemical shifts for proton are reported in parts per million (ppm) downfield from tetramethylsilane and are referenced to residual proton in the NMR solvent (DMSO-d_6: δ 2.50). Experimental conditions: delay: 1; pulse: 45°; scans: 64.

Table S1. Screening of fentanyl citrate

Methodology	Nº Experiments	Nº Solids	Form obtained (according to PXRD)
Evaporations at room temperature (solubility study)	19	15	Compounds **1**, **2** and **5**
Slurry experiments (solubility study)	11	11	Compounds **2**, **3**, **4** and **6**
Slurry experiments	16	21	Compounds **1**, **2**, **3**, **4** and **6**
Crystallizations at slow cooling rate	7	6	Compound **1** and **3**

4.5. X-ray crystallographic analysis.

4.5.1 Single crystal X-ray diffraction intensity data of Sildenafil form I and acetonitrile solvate form I were collected using a D8 Venture system equipped with a multilayer monochromator and a Mo microfocus (λ = 0.71073 Å). Frames were integrated with the Bruker SAINT software package using a SAINT algorithm. Data were corrected for absorption effects using the multi-scan method (SADABS).[5] The structure was solved and refined using the Bruker SHELXTL Software Package, a computer program for automatic solution of crystal structures and refined by full-matrix least-squares method with ShelXle Version 4.8.0, a Qt graphical user interface for SHELXL computer program.[6]

4.5.2 Powder X-ray diffraction patterns of polymorph screening were obtained on a PANalytical X'Pert PRO MPD diffractometer in transmission configuration using Cu Kα1+2 radiation (λ = 1.5406 Å) with a focalizing elliptic mirror and a PIXcel detector working at a maximum detector's active length of 3.347°. Configuration of convergent beam with a focalizing mirror and a transmission geometry with flat samples sandwiched between low absorbing films measuring from 2 to 40° in 2θ, with a step size of 0.026° and a total measuring time of 15 and 30 minutes. The powder diffractograms were indexed and the lattice parameters were refined by means of LeBail fits by means of Dicvol04,[7] and the space groups were determined from the systematic absences.

5.- Crystal data and structure refinement

5.1 Compound 1 (1.125 hydrate) (mo_023TB220_0m_a): CCDC 1877765

Table S2. Crystal data and structure refinement for mo_023TB220_0m_a.

Identification code	mo_023TB220_0m_a	
Empirical formula	C224 H306 N16 O74	
Formula weight	4406.83	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	C 2/c	
Unit cell dimensions	a = 34.603(2) Å	α= 90°.
	b = 9.5694(6) Å	β= 120.599(2)°.
	c = 20.2633(12) Å	γ = 90°.
Volume	5775.4(6) Å^3	
Z	1	
Density (calculated)	1.267 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.095 mm^{-1}	
F(000)	2354	
Crystal size	0.425 x 0.341 x 0.302 mm^3	
Theta range for data collection	2.335 to 30.607°.	
Index ranges	-49<=h<=49, -13<=k<=13, -28<=l<=27	
Reflections collected	109161	
Independent reflections	8854 [R(int) = 0.0759]	
Completeness to theta = 25.242°	99.9 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7461 and 0.6425	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	8854 / 0 / 383	
Goodness-of-fit on F^2	1.018	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0516, wR2 = 0.1193	
R indices (all data)	R1 = 0.0766, wR2 = 0.1329	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.441 and -0.351 e.Å^{-3}	
CCDC	1877765	

Table S3. Torsion angles [°] for mo_023TB220_0m_a.

Donor	---	H....Acceptor	[ARU]	D - H	H...A	D...A	D - H...A
N2	--H2	..O7	[ ]	1.00	2.29	3.1788(16)	147
N2	--H2	..O8	[ ]	1.00	1.87	2.7798(16)	149
O2	--H2C	..O3	[1-x,-y,1-z]	0.98(2)	1.65(2)	2.6279(17)	175.9(16)
O4	--H4O	..O7	[ ]	0.84	2.08	2.5927(19)	119
O1W	--H1WA	..O1	[x,1-y,-1/2+z]	0.80(3)	2.03(3)	2.804(2)	162(2)
O1W	--H1WB	..O8	[ ]	0.90(2)	1.85(2)	2.7209(16)	162(3)
O5	--H50	..O1W	[1/2-x,-1/2+y,1/2-z]	0.89(2)	1.728(18)	2.5817(18)	161.3(15)

5.2 Compound 2 (anhydrous form I) (mo_023VB133_0m_a): CCDC 1877766

Table S4. Crystal data and structure refinement for mo_023VB133_0m_a.

Identification code	mo_023VB133_0m_a	
Empirical formula	C28 H36 N2 O8	
Formula weight	528.59	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P -1	
Unit cell dimensions	a = 8.9630(5) Å	α= 109.411(2)°.
	b = 11.2533(7) Å	β= 96.728(2)°.
	c = 14.8740(9) Å	γ = 107.486(2)°.
Volume	1309.72(14) Å^3	
Z	2	
Density (calculated)	1.340 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.098 mm^{-1}	
F(000)	564	
Crystal size	0.466 x 0.165 x 0.052 mm^3	
Theta range for data collection	2.455 to 30.587°.	
Index ranges	-12<=h<=12, -16<=k<=16, -21<=l<=21	
Reflections collected	84871	
Independent reflections	8025 [R(int) = 0.0393]	
Completeness to theta = 25.242°	99.8 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7461 and 0.7107	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	8025 / 0 / 352	
Goodness-of-fit on F^2	1.027	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0406, wR2 = 0.1017	
R indices (all data)	R1 = 0.0514, wR2 = 0.1083	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.452 and -0.335 e.Å^{-3}	
CCDC	18877766	

Table S5. Hydrogen bonds for mo_023VB133_0m_a.

Donor --- H....Acceptor [ARU]	D - H	H...A	D...A	D - H...D
N(2) --H(2) ..O(8) [-1+x,y,z]	1.00	1.66	2.6330(13)	162
O(3) --H(3) ..O(1) [ ]	0.864(17)	1.760(17)	2.6228(12)	175.8(10)
O(4) --H(4O) ..O(7) [ ]	0.855(19)	2.29(2)	2.6467(11)	105.2(16)
O(4) --H(4O) ..O(6) [1-x,-y,1-z]	0.855(19)	2.19(2)	3.0076(12)	161(2)
O(5) --H(5A) ..O(7) [1-x,-y,1-z]	0.895(15)	1.675(16)	2.5691(12)	176.3(17)

5.3 Compound 3 (toluene solvate) (mo_023VB214_0m_a): CCDC 1877768

Table S6. Crystal data and structure refinement for mo_023VB214_0m_a.

Identification code	mo_023VB214_0m_a	
Empirical formula	C35 H44 N2 O8	
Formula weight	620.72	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21/c	
Unit cell dimensions	a = 17.9040(12) Å	α= 90°.
	b = 9.6858(6) Å	β= 108.125(3)°.
	c = 19.3593(13) Å	γ = 90°.
Volume	3190.6(4) Å^3	
Z	4	
Density (calculated)	1.292 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.091 mm^{-1}	
F(000)	1328	
Crystal size	0.320 x 0.287 x 0.052 mm^3	
Theta range for data collection	2.376 to 28.008°.	
Index ranges	-23<=h<=23, -12<=k<=12, -25<=l<=25	
Reflections collected	61126	
Independent reflections	7638 [R(int) = 0.0619]	
Completeness to theta = 25.242°	99.3 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7456 and 0.6480	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	7638 / 0 / 414	
Goodness-of-fit on F^2	1.053	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0490, wR2 = 0.1363	
R indices (all data)	R1 = 0.0648, wR2 = 0.1511	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.509 and -0.310 e.Å^{-3}	
CCDC	18877768	

Table S7. Hydrogen bonds for mo_023VB214_0m_a.

Donor --- H....Acceptor	[ARU]	D - H	H...A	D...A	D - H...A
N(1) --H(1)	..O(6)	[ ]	1.00	1.71	2.6975(18)	168
O(2) --H(2A)	..O(5)	[ ]	0.83(2)	2.299(16)	2.6776(17)	108.3(9)
O(2) --H(2A)	..O(7)	[1-x,-1/2+y,3/2-z]	0.83(2)	1.974(19)	2.7424(17)	153.7(16)
O(4) --H(4)	..O(5)	[1-x,-1/2+y,3/2-z]	0.89(3)	1.92(2)	2.7173(16)	148.4(17)
O(8) --H(8)	..O(5)	[1-x,1/2+y,3/2-z]	0.91(2)	1.75(2)	2.6559(16)	174.7(19)

6.- Characterization of the solids

Figure S2: DSC of compound 1 (1.125 hydrate), open crucible

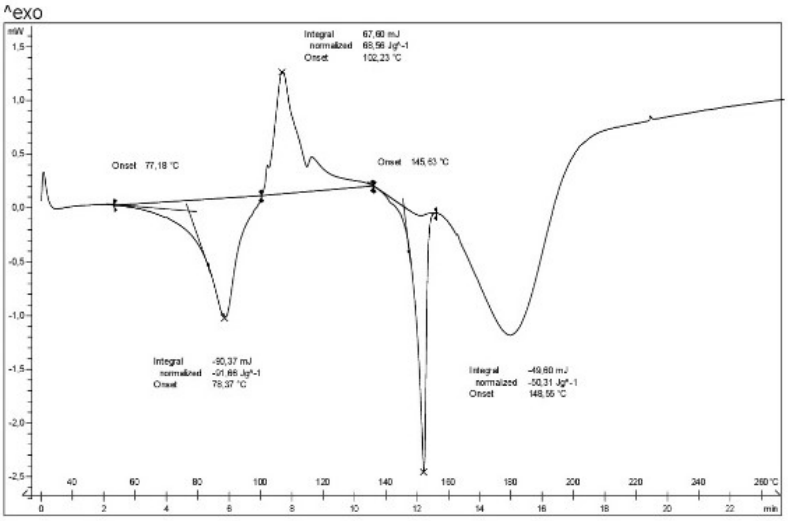


Figure S3: DSC of compound 1 (1.125 hydrate), sealed crucible

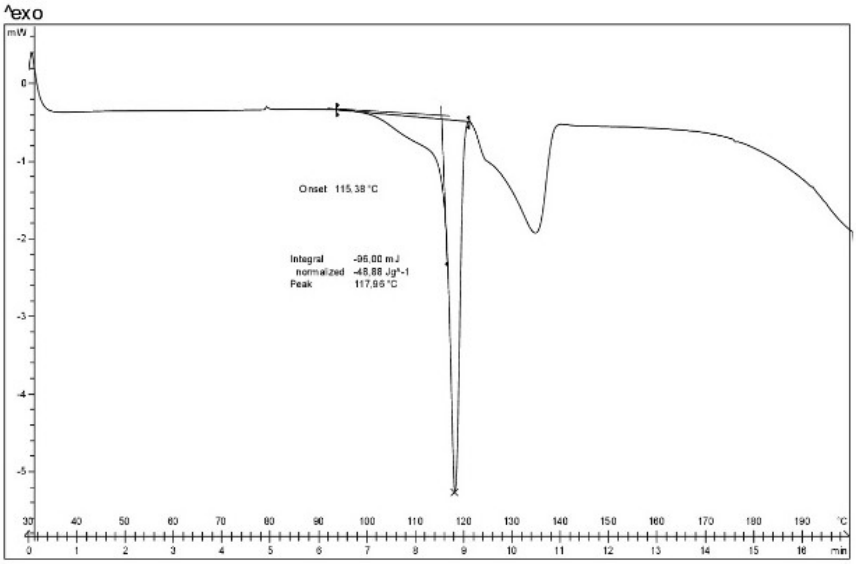


Figure S4: TGA of compound 1 (1.125 hydrate)

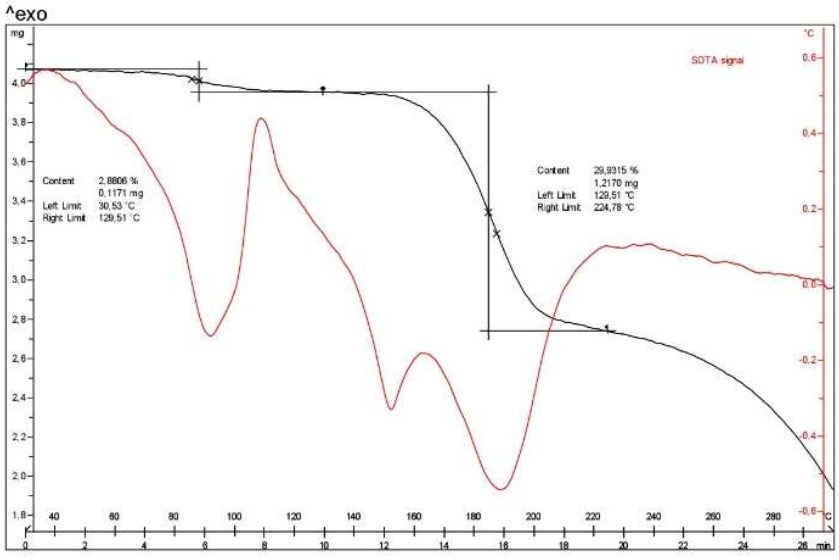


Figure S5: PXRD of compound 1 (1.125 hydrate)

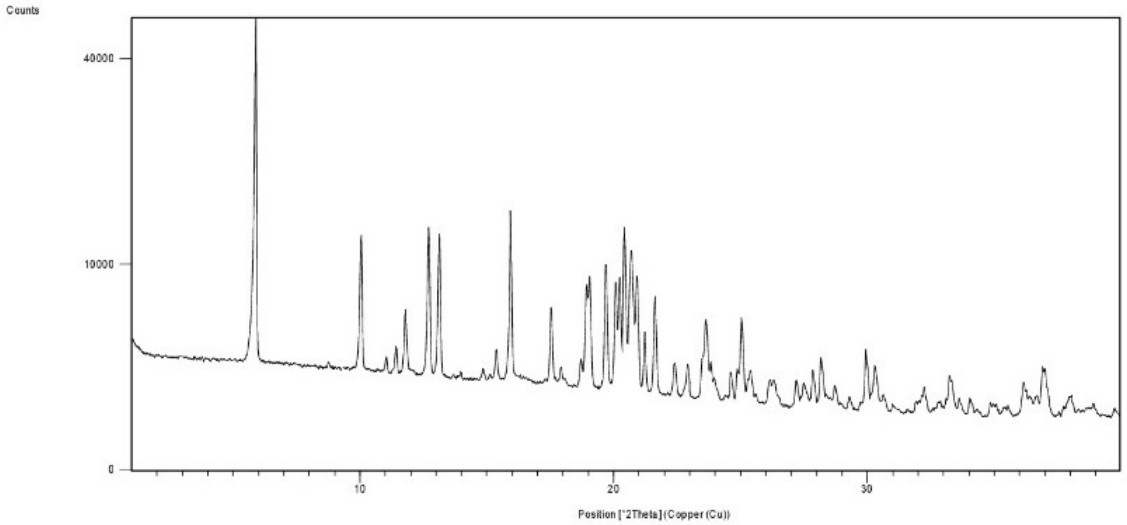


Figure S6: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of compound 1 (1.125 hydrate)

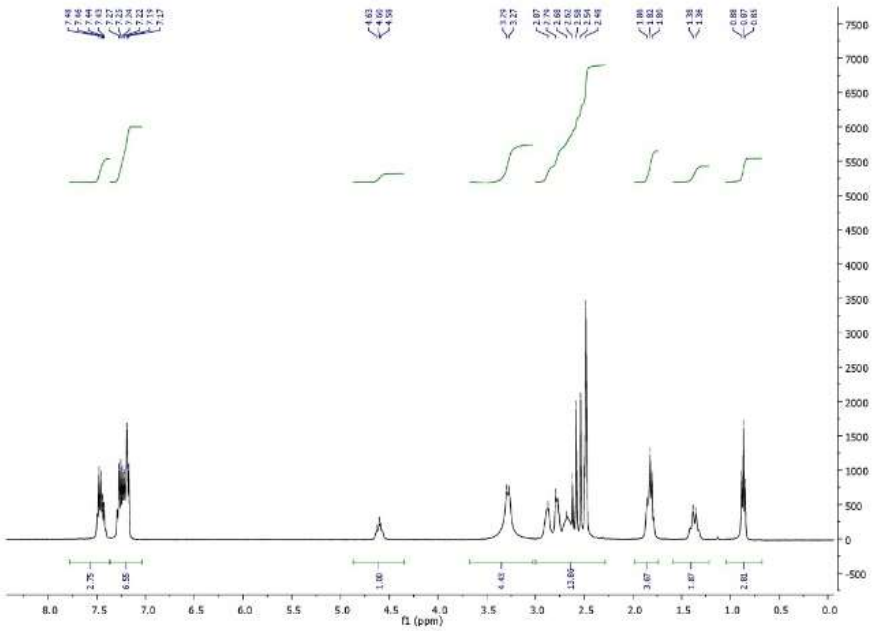


Figure S7: DSC of compound 2 (anhydrous form I)

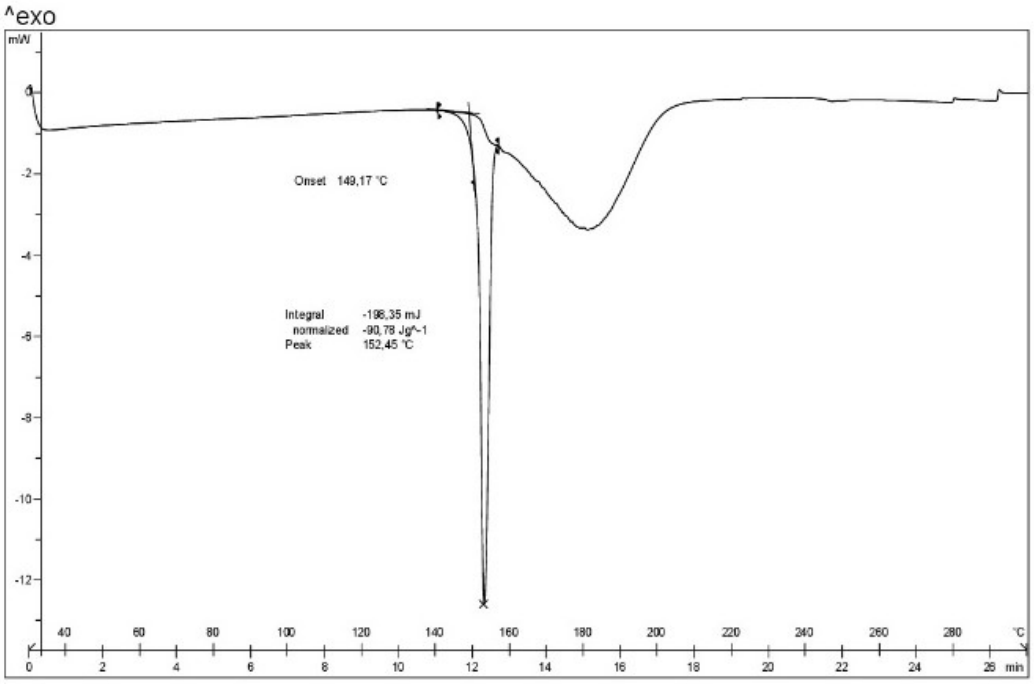


Figure S8: TGA of compound 2 (anhydrous form I)

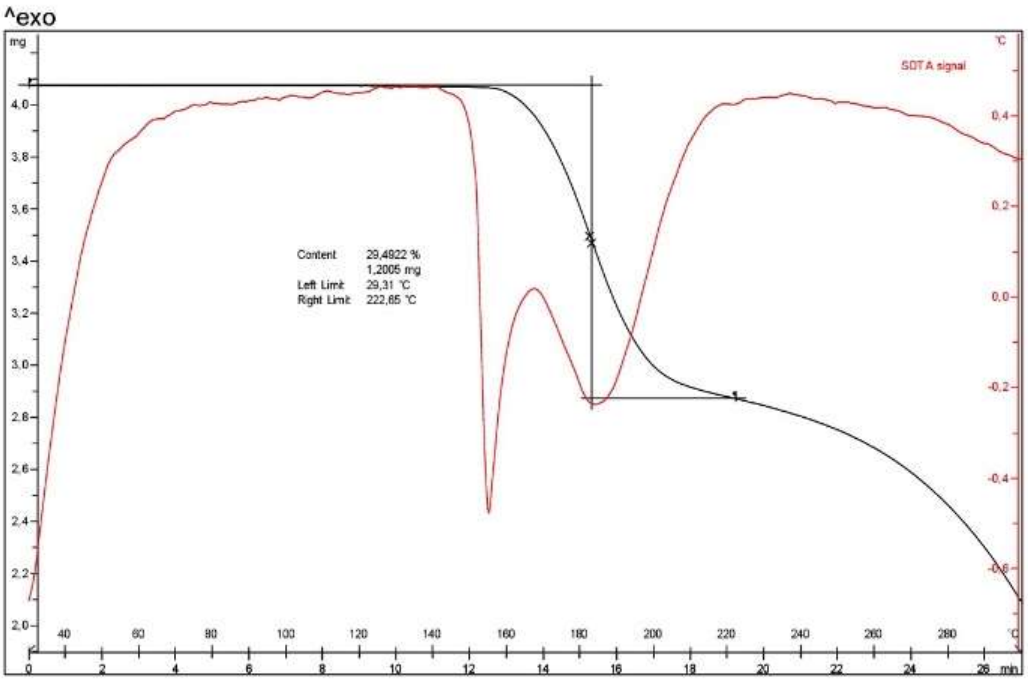


Figure S9: PXRD of compound 2 (anhydrous form I)

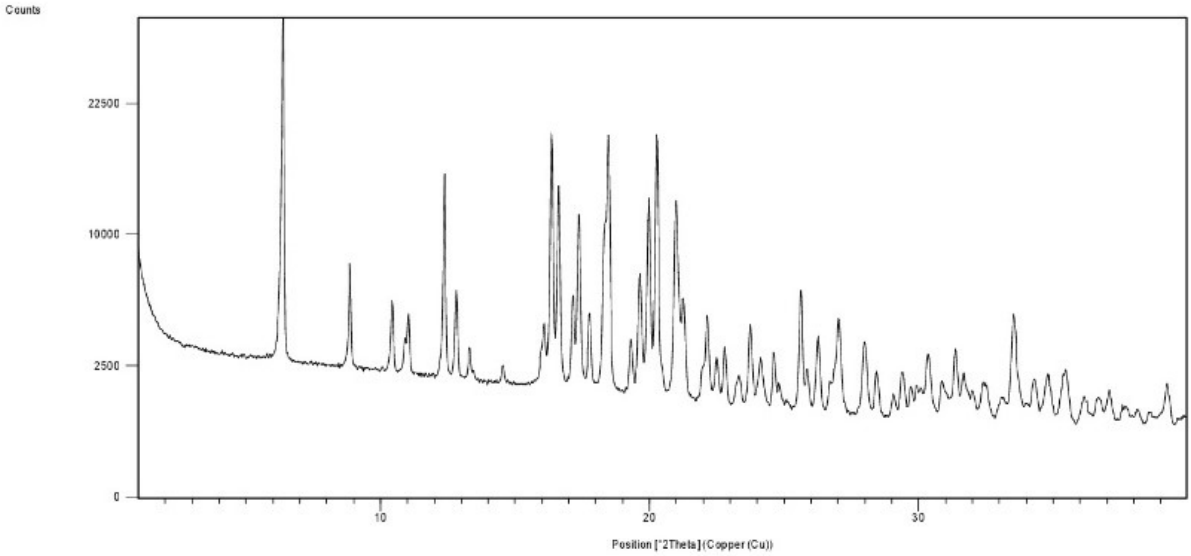


Figure S10: ^{1}H-NMR (DMSO-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of compound 2 (anhydrous form I)

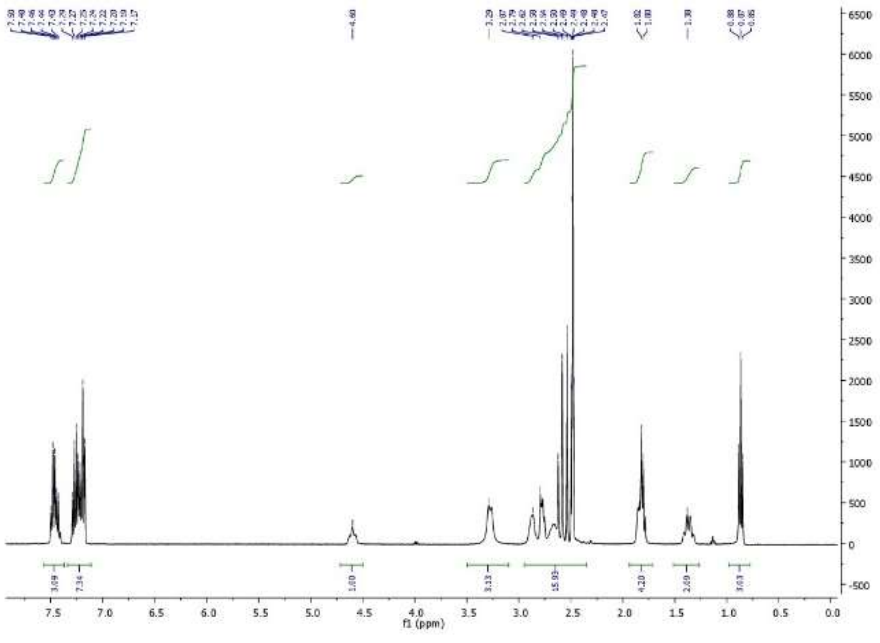


Figure S11: DSC of compound 4 (anhydrous form II)

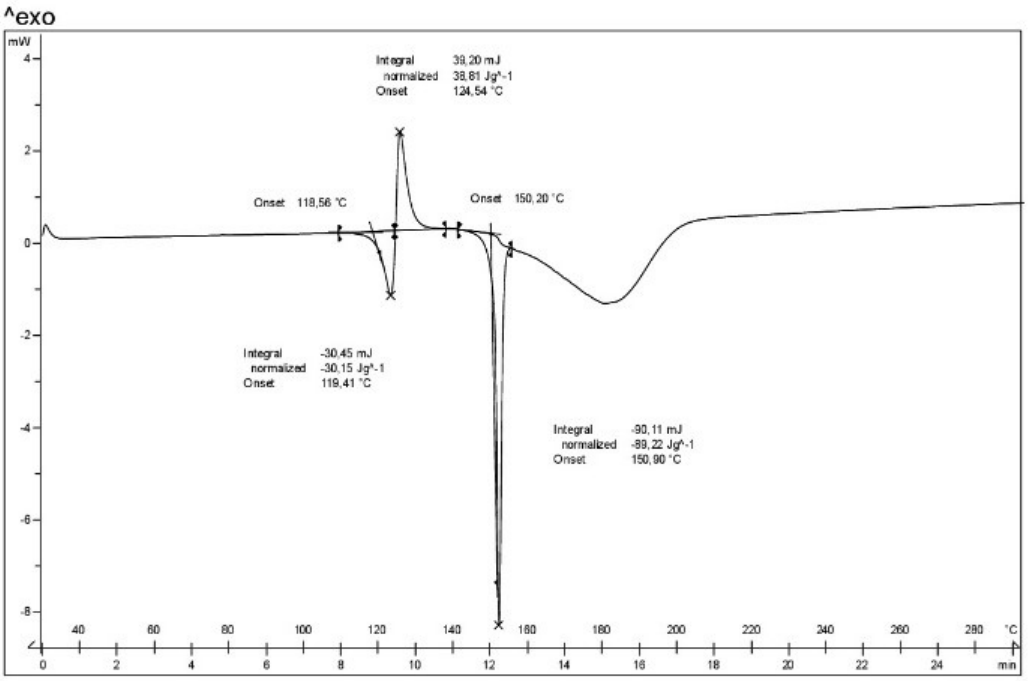


Figure S12: TGA of compound 4 (anhydrous form II)

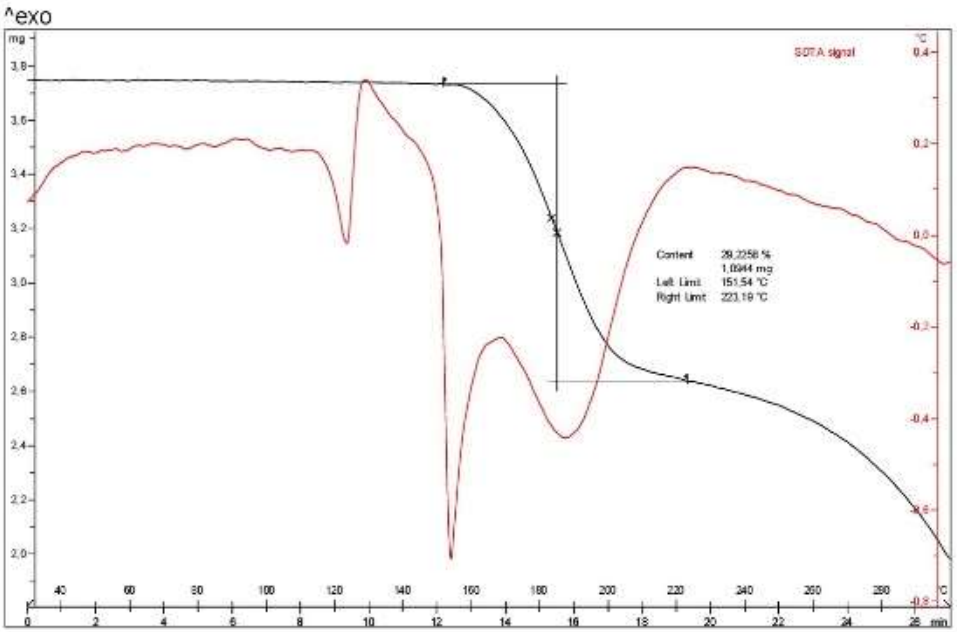


Figure S13: PXRD of compound 4 (anhydrous form II)

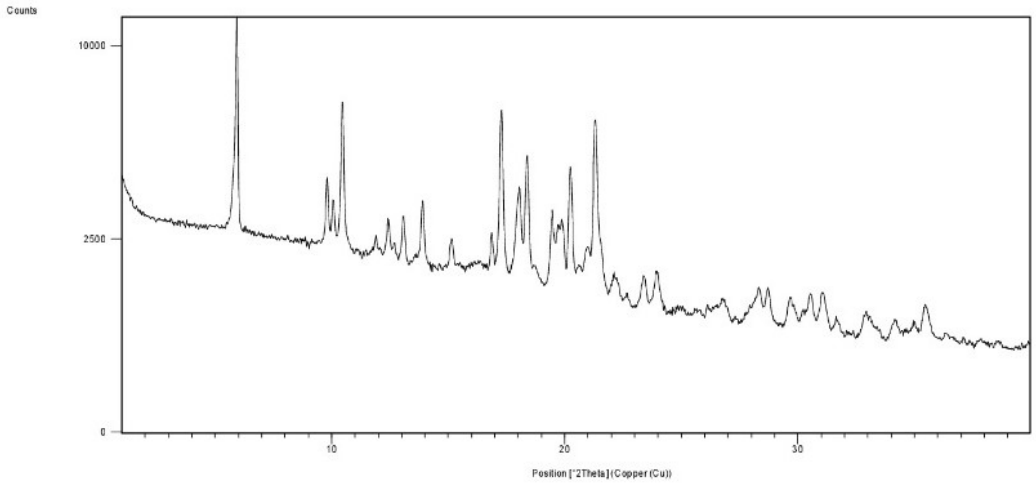


Figure S14: The XRPD of compound4 has been indexed with the following proposed monoclinic cell: a=18.34(5) Å, b=10.253(3) Å, c=16.13(1) Å, β= 112.71(3)°, V=2797(2) Å ^{3} (Figures of Merit: M= 18, F= 56), a $P2_1/a$ space group is compatible with the cell.

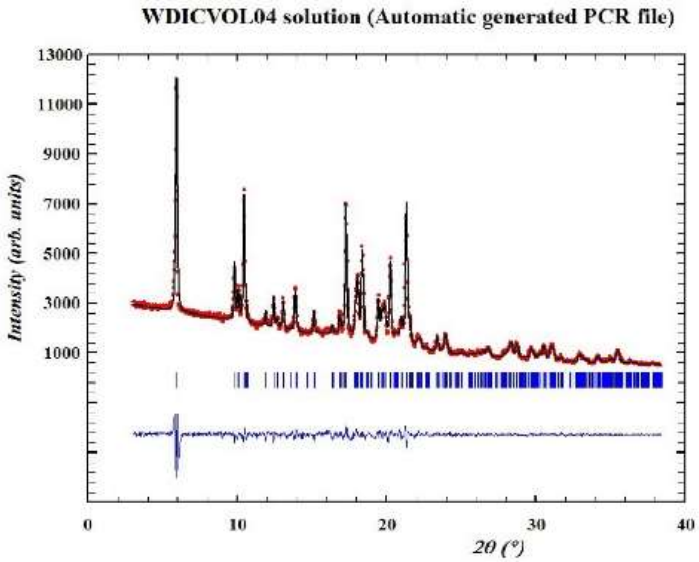
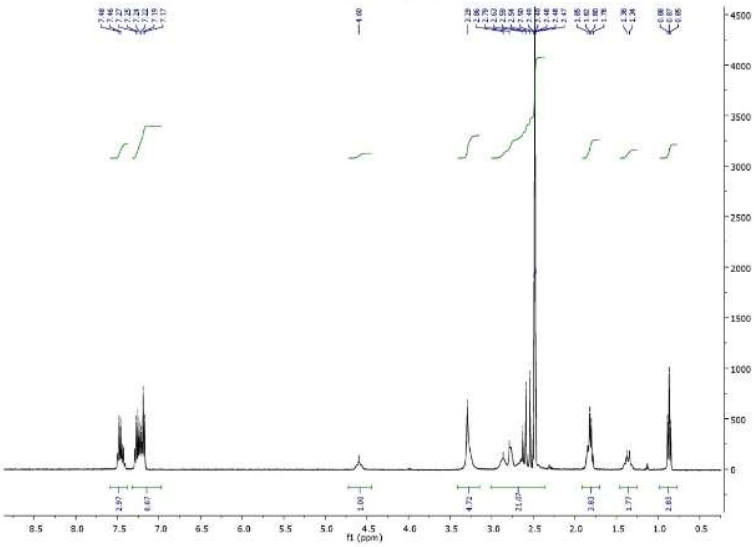


Figure S15: ^{1}H-NMR (dmso-d_6/delay: 1/pulse: 45°/scans: 64) of compound 4 (anhydrous form II)



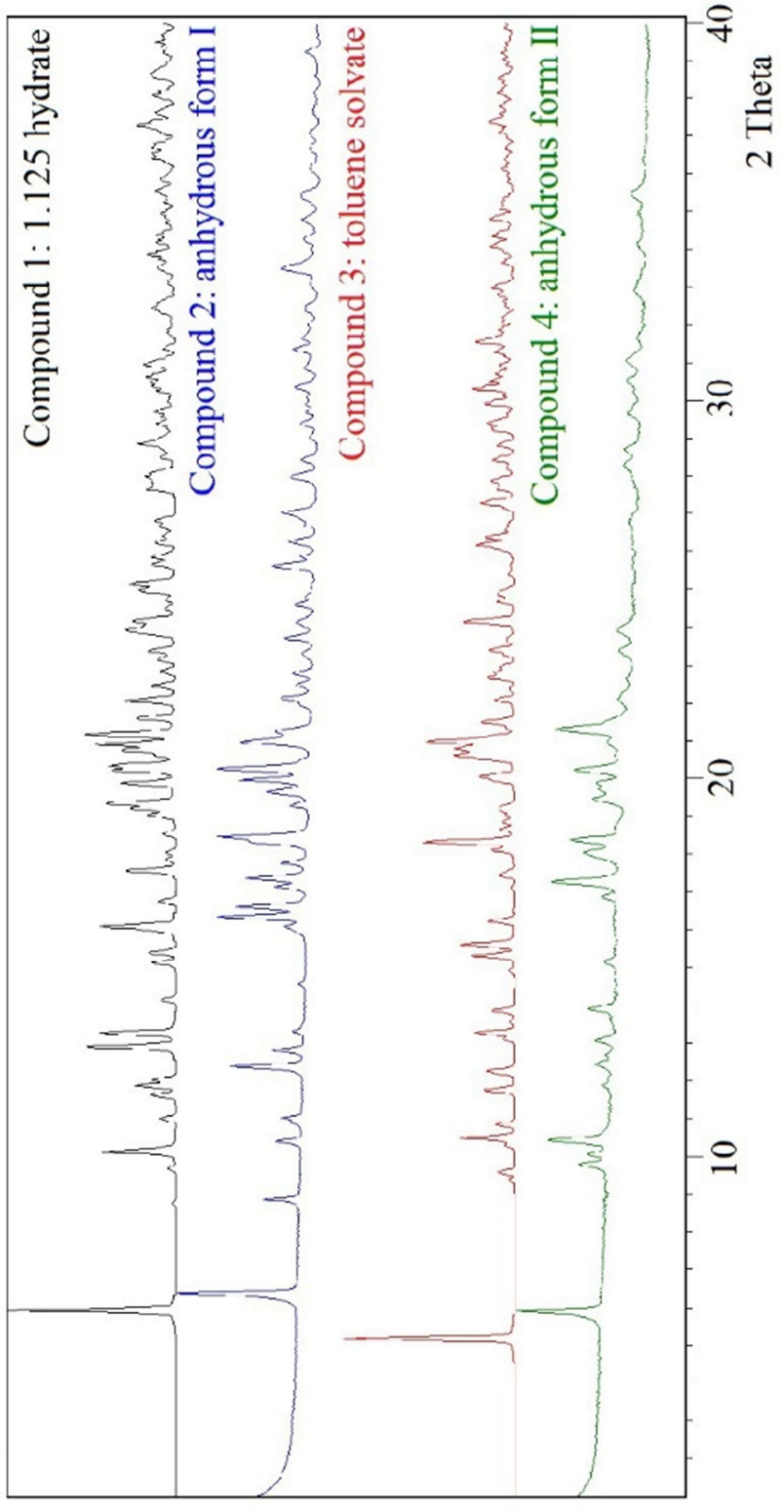


Figure S16: Comparison of the PXRD patterns of different forms of fentanyl citrate from 2 to 40 2θ: compounds 1 and 3 patterns are simulated from crystal structure

7.- References

[1] R. Ahlrichs, M. Bär, M. Hacer, H. Horn and C. Kömel, *Chem. Phys. Lett*., 1989, **162**, 165–169.
[2] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich and H. Krieg, *J. Chem. Phys.*, 2010, **132**, 154104.
[3] J.-D. Chai and M. Head-Gordon, *J. Chem. Phys*., 2008, **128**, 084106; (b) J.-D. Chai and M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys*., 2008, **10**, 6615; (c) J.-D. Chai and M. Head-Gordon, *Chem. Phys. Lett*., 2008, **467**, 176; (d) M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani and V. Barone, *J. Comput. Chem*., 2003, **24**, 669–681
[4] J. Contreras-García, E. R. Johnson, S. Keinan, R. Chaudret, J. -P. Piquemal, D. N. Beratan, W. Yang, *J. Chem. Theory Comput*., 2011, **7**, 625-632.
[5] SADABS Bruker AXS; Madison, Wisconsin, USA, 2004; SAINT, Software Users Guide, Version 6.0; Bruker Analytical X–ray Systems, Madison, WI, 1999. Sheldrick, G. M. SADABS v2.03: Area–Detector Absorption Correction. University of Göttingen, Germany, 1999; Saint Version 7.60A (Bruker AXS 2008); SADABS V. 2008–1 (2008).
[6] Sheldrick, G. M. Acta Cryst. 2008, A64, 112–122.
[7] Boultif, A.; Louër, D. Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method J. Appl. Crystallogr. 1991, 24, 987–993

APÈNDIX E. REIVINDICACIONS PATENT

Claims

Crystalline forms of beta-sitosterol

Patent WO2018/234540A1 (**2018**)

Rafael Barbas Cañero,[1] Anna Portell Bueso,[1] Rafel Prohens López,[1,2]
Mariona Palou March,[3] Francisca Serra Vich[3] and Andreu Palou March[3]

[1] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[2] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L., Isaac Newton s/n, edificio Disset, local A5, ParcBIT, 07121 Palma de Mallorca, Illes Balears, Spain.*

[3] *Alimentomica S. L., Crta. de Son Garreta, km 0.8, polígon 11, 07310 Campanet (Baleares), Spain.*

Claims

1. A cocrystal of beta-sitosterol or a pharmaceutically acceptable ester thereof or an edible acceptable ester thereof and an organic carboxylic acid coformer.

2. The cocrystal according to claim 1, which is a cocrystal of beta-sitosterol and an organic carboxylic acid coformer.

3. The cocrystal according to any of the claims 1-2, wherein the organic carboxylic acid is selected from the group consisting of L-lactic acid, propionic acid, zymonic acid, succinic acid, ascorbic acid, gallic acid, 2,4-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 3-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid and 3,5-dihydroxybenzoic acid.

4. The cocrystal according to any of the claims 1-3, wherein the organic carboxylic acid is selected from the group consisting of L-lactic acid, propionic acid, zymonic acid, succinic acid, ascorbic acid and gallic acid.

5. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and L-lactic acid monohydrate characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 2.3 and 4.6 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

6. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and propionic acid monohydrate characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 2.2 and 4.4 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

7. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and zymonic acid monohydrate characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 2.2 and 4.5 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

8. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and gallic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 7.9 and 16.3 ± 0.3 degrees 2 theta (Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å).

9. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 2,4-dihydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 11.4 and 16.2 ± 0.3 degrees 2 theta (Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å).

10. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3,4-dihydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 2.3 and 15.9 ± 0.3 degrees 2 theta (Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å).

11. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3,5-dihydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 10.7 and 15.9 ± 0.3 degrees 2 theta (Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å).

12. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3,5-dihydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 2.3 and 4.6 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

13. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3-hydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 4.6 and 12.9 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

14. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 4-hydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 6.6 and 13.5 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

15. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 4-hydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 15.8 and 17.9 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

16. A hydrate crystal form of beta-sitosterol or a pharmaceutically acceptable ester thereof or an edible acceptable ester thereof having a 1.25 molecules of water per molecule of beta-sitosterol.

17. The hydrate crystal form according to claim 16, characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 3.2 and 4.7 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

18. A combination comprising:
a cocrystal of beta-sitosterol and an organic carboxylic acid as defined in any of the claims 1-15; with
a crystal of beta-sitosterol selected from the group consisting of a cocrystal of beta-sitosterol and organic alcohol or alternatively the hydrate crystal form of beta-sitosterol having a 1.25 molecules of water as defined in any of the claims 16-17.

19. A composition comprising an effective amount of a crystal of beta-sitosterol as defined in any of the claims 1-17; or alternatively a combination as defined in claim 18 together with one or more appropriate acceptable excipients or carriers.

20. A crystal of beta-sitosterol as defined in any of the claims 1-17; or alternatively a combination as defined in claim 18; or alternatively a composition as defined in claim 19 for use as a medicament; or for use in the

11. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3,5-dihydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 10.7 and 15.9 ± 0.3 degrees 2 theta (Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å).

12. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3,5-dihydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 2.3 and 4.6 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

13. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 3-hydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 4.6 and 12.9 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

14. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 4-hydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 6.6 and 13.5 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

15. The cocrystal according to any of the claims 1-4, which is a cocrystal of beta-sitosterol and 4-hydroxybenzoic acid characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 15.8 and 17.9 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

16. A hydrate crystal form of beta-sitosterol or a pharmaceutically acceptable ester thereof or an edible acceptable ester thereof having a 1.25 molecules of water per molecule of beta-sitosterol.

17. The hydrate crystal form according to claim 16, characterized by having a X-ray diffractogram that comprises characteristic peaks at 3.2 and 4.7 ± 0.3 degrees 2 theta at a Cu-K_α radiation, λ = 1.5406 Å.

18. A combination comprising:
a cocrystal of beta-sitosterol and an organic carboxylic acid as defined in any of the claims 1-15; with
a crystal of beta-sitosterol selected from the group consisting of a cocrystal of beta-sitosterol and organic alcohol or alternatively the hydrate crystal form of beta-sitosterol having a 1.25 molecules of water as defined in any of the claims 16-17.

19. A composition comprising an effective amount of a crystal of beta-sitosterol as defined in any of the claims 1-17; or alternatively a combination as defined in claim 18 together with one or more appropriate acceptable excipients or carriers.

20. A crystal of beta-sitosterol as defined in any of the claims 1-17; or alternatively a combination as defined in claim 18; or alternatively a composition as defined in claim 19 for use as a medicament; or for use in the

prophylaxis and/or treatment of a disease or condition which involves an alteration of lipid metabolism, circulating levels of lipids in the blood and/or lipid composition in tissues and organs.

APÈNDIX F. PUBLICACIONS SUPLEMENTÀRIES

Article 6

Solubility-pH profiles of a free base and its salt: sibutramine as a case study

Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicology and Pharmacokinetics of Drugs (ADMET & DMPK), **2017**, 253-256

Diego Lucero-Borja[1], Òscar Castilla[1], Rafael Barbas[2], Xavier Subirats[1], Clara Ràfols[1]

[1] *Institute of Biomedicine (IBUB) and Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Universitat de Barcelona - Martí i Franquès, 1-11, 08028 Barcelona, Spain*

[2] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

Article 7

Property prediction and pharmacokinetic evaluation of mixed stoichiometry cocrystals of zafirlukast, a drug delivery case study

Crystal Engineering Communications, **2018**, 20, 1346-1351

Philip A. Corner[1], David J. Berry[1], James F. McCabe[2], Rafael Barbas[3], Rafel Prohens[3], Hongwen Du[4], Hongyu Zhou[4], Antonio Llinas[5]

[1] *Division of Pharmacy, Durham University, Queen's Campus, Stockton on Tees, TS17 6BH, UK*

[2] *Pharmaceutical Sciences, IMED, AstraZeneca, Macclesfield, SK10 2NA, UK.*

[3] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[4] *PK-BA, Pharmaron, No 6, Tai He road, BDA, Beijing, China.*

[5] *Respiratory, Inflammation, Autoimmunity IMED Biotech Unit, AstraZeneca, Gothenburg, Sweden.*

Article 8

Assembling the Puzzle of Apixaban Solid Forms

Molecular Pharmaceutics, **2018**, 15, 1909-1916

Rafael Barbas, Cristina Puigjaner, Rafel Prohens

Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.

Article 9

Derisking Development by a Cocrystallization Screen of a Novel Selective Inhaled JAK-STAT inhibitor

Crystal Growth & Design, **2019**, 19, 403-414

Antonio Llinas[1], Rafael Barbas[2], Mercè Font-Bardia[3], Amir Smailagic[1], Rafel Prohens[2,4]

[1] *Respiratory, Inflammation, Autoimmunity IMED Biotech Unit, AstraZeneca, Gothenburg, Sweden.*

[2] *Unitat de Polimorfisme i Calorimetria, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[3] *Unitat de Difracció de Raigs X, Centres Científics i Tecnològics, Universitat de Barcelona, Baldiri Reixac 10, 08028 Barcelona, Spain.*

[4] *Center for Intelligent Research in Crystal Engineering S.L, Palma, Spain.*

APÈNDIX G. CLASSIFICACIÓ DELS DISSOLVENTS

A continuació es presenten els dissolvents utilitzats durant els estudis dels principis actius: sildenafil (1), citrat de fentanil (2) i beta-sitosterol (3), (Taula 1.A-G).

Taula 1.A-G. Dissolvents emprats durant els estudis dels principis actius

Solvent	T_{pf}/ ºC [a]	T_{peb}/ ºC [b]	Toxicitat [c]	Grup [d]	Principis actius
Metanol	-97.7	64.5	Classe 2	3	1, 2, 3
Etanol	-114.5	78.3	Classe 3	3	1, 2, 3
Isopropanol	-88.0	82.2	Classe 3	3	1, 2, 3
Butanol	-88.6	117.7	Classe 3	3	1, 2, 3
1-propanol	-126.2	97.2	Classe 3	3	1
1-pentanol	-78.2	138.0	Classe 3	3	1
1-octanol[e]	-15.5	194-195	-[f]	3	1
2-metoxietà	-85.1	124.6	Classe 2	3	1
1,2-propandiol[e]	-59	188.2	-[f]	14	1
Glicerol[e]	18	290	-[f]	14	1
Etilenglicol	-12.6	197.5	Classe 2	12	1, 2, 3
Àcid fòrmic[e]	8	101.0	Classe 3	12	1, 2, 3
Acetonitril	-48.3	81.6	Classe 2	9	1, 2, 3
Propanitril	-92.8	97.3	-[f]	9	1
Metil etil cetona	-86.7	79.6	Classe 3	5	1, 2, 3
Acetona	-94.7	56.1	Classe 3	5	1, 2, 3
Metil isobutil cetona	-84.2	117.5	Classe 2	5	1, 2, 3
Aigua	0.0	100.0	-	15	1, 2, 3
Dimetilformamida	-60.4	153.1	Classe 2	6	1, 2, 3
Dimetilsulfòxid	18.5	189.0	Classe 3	6	1, 2, 3
1-metil-2-pirrolidona	-24.4	202	Classe 2	6	1
Pentà	-129.8	36.1	Classe 3	1	1, 2, 3
Hexà	-95.4	68.7	Classe 2	1	1
Heptà	-90.6	98.5	Classe 3	1	1, 2, 3
Ciclohexà	6.8	80.8	Classe 2	1	1, 2, 3
Metilciclohexà[e]	-126.7	101	Classe 2	1	1
Toluè	-95.0	110.6	Classe 2	4	1, 2, 3
Xilè	-50	139	Classe 2	4	1, 2, 3
Acetat d'etil	-83.6	77.2	Classe 3	2	1, 2, 3
Dietilèter	-116.3	34.5	Classe 3	2	1, 2, 3
Tetrahidrofurà	-108.4	66.0	Classe 2	2	1, 2, 3
Dimetil etilenglicol	-69.2	84.5	Classe 2	2	1, 2, 3
Diisopropilèter[e]	-60.0	68.5	-[f]	2	1, 2, 3
Dioxà	11.8	101.3	Classe 2	11	1, 2, 3
Trietilamina	-114.7	88.9	Classe 3	11	1
Diclorometà	-94.9	39.6	Classe 2	7	1, 2, 3
Cloroform	-63.6	61.2	Classe 2	7	1, 2, 3
1,1,1-tricloroetà	-30.4	74.1	Classe 1	7	1
1,1,2-tricloroetè	-86.4	87.2	Classe 2	7	1
1,2-dicloroetà[e]	-35.7	83.5	Classe 1	7	1
Anisol	-37.5	153.7	Classe 3	7	1
Àcid acètic	16.5	117.9	Classe 3	8	1, 2, 3
Alcohol benzílic	-15.3	205.4	-[f]	10	1, 2, 3
Amoníac[e]	-78.0	-33.0	-[f]	13	1, 2, 3
Dietilamina	-49.8	55.5	-[f]	13	1, 2, 3
Acetat d'disopropil[e]	-73	89	Classe 3	-[h]	1
Iodometà[e]	-66.5	42.5	-[f]	-[h]	1
2,2,2-trifluoroetanol[g]	-44	74	-[f]	-[h]	1
Àcid trifluoroacètic[e]	-15	72	-[f]	-[h]	1
Piridina	-41.5	115.3	Classe 2	-[h]	1
Mesitilè[e]	-45	165	-[f]	-[h]	1
2-nitrotoluè[e]	-10	222	-[f]	-[h]	1
Nitrobenzè	5.8	210.9	-[f]	-[h]	1
Àcid propanoic[e]	-21	141	-[f]	-[h]	1

[a] Punt de fusió; [b] Punt d'ebullició [204]; [c] Classificació segons FDA [205]; [d] Agrupació dels dissolvents [191]; [e] Dades segons ICSC; [f] Sense classificació; [g] Dades segons especificacions de Sigma-Adrich; [h] Solvents emprats fora de l'agrupació utilitzada.

A continuació es mostra la classificació dels dissolvents en funció de la seva toxicitat segons la recomanacions de la FDA i l'ICSC. [205] (Taula 2.A-G)

Els dissolvents de la Classe 1 no s'han d'utilitzar en la fabricació de substàncies farmacèutiques, excipients i medicaments a causa de la seva elevada toxicitat o del seu perjudicial efecte sobre el medi ambient.

Els dissolvents de la Classe 2 han de ser limitats en els productes farmacèutics per la seva inherent toxicitat.

Els dissolvents de la Classe 3 poden considerar-se menys tòxics i de menor risc per a la salut humana. Tanmateix, no hi ha estudis de toxicitat o carcinogenicitat a llarg termini per a molts dels dissolvents de la Classe 3. Les dades disponibles indiquen que són menys tòxics en estudis aguts o a curt termini i negatius en estudis de genotoxicitat.

Taula 2.A-G. Classificació del dissolvents segons la FDA i l'ICSC

Solvent	Toxicitat	PDE[a] (mg/dia)	Concentració límit (ppm)
Metanol	Classe 2	30.0	3000
Etilenglicol	Classe 2	6.2	620
Acetonitril	Classe 2	4.1	410
Metil isobutil cetona	Classe 2	45	4500
Dimetilformamida	Classe 2	8.8	880
Ciclohexà	Classe 2	38.8	3880
Toluè	Classe 2	8.9	890
Xilè	Classe 2	21.7	2170
Tetrahidrofurà	Classe 2	7.2	720
Dimetil etilenglicol	Classe 2	18.7	1870
Dioxà	Classe 2	3.8	380
Diclorometà	Classe 2	6.0	600
Cloroform	Classe 2	0.6	60
Etanol	Classe 3	-[a]	
Isopropanol	Classe 3	-[a]	
Butanol	Classe 3	-[a]	
Àcid fòrmic	Classe 3	-[a]	
Metil etil cetona	Classe 3	-[a]	
Acetona	Classe 3	-[a]	
Dimetilsulfòxid	Classe 3	-[a]	
Pentà	Classe 3	-[a]	
Heptà	Classe 3	-[a]	
Acetat d'etil	Classe 3	-[a]	
Dietilèter	Classe 3	-[a]	
Àcid acètic	Classe 3	-[a]	
Diisopropilèter[b]	-[c]	250 ppm, 1060 mg/m³ [d]	
Alcohol benzílic[b]	-[c]	22 mg/m³ [e]	
Amoníac[b]	-[c]	20 ppm, 14 mg/m³ [d]	
Dietilamina[b]	-[c]	5 ppm, 15 mg/m³ [d]	
Aigua		-	

[a] Dissolvents que haurien d'estar limitats per GMP o altres requisits basats en la qualitat; [b] Dades segons ICSC; [c] Dissolvents no reportats en la recomanacions de la FDA; [d] Valor en VLA-ED; [e] Valor en MAK.

Finalment es mostra una classificació dels dissolvents en funció de les següents propietats: tendència a actuar com acceptor d'enllaç d'hidrogen; tendència a actuar com donador d'enllaç d'hidrogen; polaritat/dipolaritat; moment dipolar i constant dielèctrica, (Taula 3.A-G). [191]

Taula 3.A-G. Classificació del dissolvents en funció de les seves propietats

Solvent	π^a	$\Sigma\alpha^b$	$\Sigma\beta^c$	μ^d	$\varepsilon_r{}^e$	Grup
Metanol	0.60	0.43	0.47	1.70	32.61	3
Etanol	0.54	0.37	0.48	1.69	24.85	
Isopropanol	0.48	0.33	0.56	1.56	19.26	
Butanol	0.47	0.37	0.48	1.66	17.33	
Etilenglicol	0.92	0.90	0.52	2.28	41.40	12
Àcid fòrmice	0.65	0.75	0.38	1.41	51.10	
Acetonitril	0.75	0.07	0.32	3.92	35.69	9
Metil etil cetona	0.67	0.00	0.51	2.78	18.25	5
Acetona	0.71	0.04	0.49	2.88	20.49	
Metil isobutil cetona	0.65	0.00	0.51	2.80	16.78	
Aigua	1.09	1.17	0.47	1.87	78.36	15
Dimetilformamida	0.88	0.00	0.74	3.82	37.22	6
Dimetilsulfòxid	1.00	0.00	0.88	3.96	46.83	
Pentà	-0.08	0.00	0.00	0.00	1.84	1
Heptà	-0.08	0.00	0.00	0.00	1.91	
Ciclohexà	0.00	0.00	0.00	0.00	2.02	
Toluè	0.54	0.00	0.14	0.38	2.37	4
Xilè	0.47	0.00	0.16	0.00	2.35	
Acetat d'etil	0.55	0.00	0.45	1.78	5.99	2
Dietilèter	0.27	0.00	0.41	1.15	4.24	
Tetrahidrofurà	0.58	0.00	0.48	1.75	7.43	
Diisopropilèter	0.27	0.00	0.41	1.13	3.38	
Dioxà	0.51	0.00	0.64	0.00	2.21	11
Diclorometà	0.82	0.10	0.05	1.60	8.93	7
Cloroform	0.58	0.15	0.02	1.04	4.71	
Àcid acètic	0.64	0.61	0.44	1.70	6.25	8
Alcohol benzílic	0.98	0.33	0.56	1.71	12.46	10
Dietilamina	0.24	0.80	0.69	0.92	3.58	13

[a] Polaritat / dipolaritat del dissolvent; [b] Sumatori de la tendència a actuar com donador d'enllaç d'hidrogen del dissolvent; [c] Sumatori de la tendència a actuar com acceptor d'enllaç d'hidrogen del dissolvent; [d] Moment dipolar en debye; [e] Constant dielèctrica.