

Pró Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa, Extensão e Ação Comunitária (ProPPE)

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Farmacologia e Terapêutia (PPGCFFT)

Nível Mestrado Profissional

WALÉRIA NUNES DE SIQUEIRA

ANÁLISE ESTRUTURAL COMPARATIVA DE POLIMORFOS DE DICLOFENACO DIETILAMÔNIO ANIDRO E MONOHIDRATADO: IMPLICAÇÕES PARA A ESTABILIDADE, DISSOLUÇÃO E BIODISPONIBILIDADE

Anápolis – GO Maio-2024



Waléria Nunes de Siqueira

ANÁLISE ESTRUTURAL COMPARATIVA DE POLIMORFOS DE DICLOFENACO DIETILAMÔNIO ANIDRO E MONOHIDRATADO: IMPLICAÇÕES PARA A ESTABILIDADE, DISSOLUÇÃO E BIODISPONIBILIDADE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Farmacologia e Terapêutica da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Farmacologia e Terapêutica.

Orientadora: Prof^a. Dra. Lóide Oliveira Sallum

Anápolis – GO Maio-2024

S618

Siqueira, Waléria Nunes de.

Análise estrutural comparativa de polimorfos de diclofenaco dietilamônio anidro e monohidratado: implicações para a estabilidade, dissolução e biodisponibilidade / Waléria Nunes de Siqueira – Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica, 2024.

47p.; il.

Orientadora: Profa. Dra. Lóide Oliveira Sallum.

Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Evangélica de Goiás - UniEvangélica, 2024.

1. Diclofenaco dietilamônio	2. Estado sólido	3. AGOA
4. <i>M06-2X/6-311++G(d,p)</i>	I. Sallum, Lóide Oliveira	II. Título
	CDU 615.1	

Catalogação na Fonte Elaborado por Rosilene Monteiro da Silva CRB1/3038





FOLHA DE APROVAÇÃO

ANÁLISE ESTRUTURAL COMPARATIVA DE POLIMORFOS DE DICLOFENACO DIETILAMÔNIO ANIDRO E MONOHIDRATADO: IMPLICAÇÕES PARA A ESTABILIDADE, DISSOLUÇÃO E BIODISPONIBILIDADE Waléria Nunes de Siqueira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas /PPGCF da Universidade Evangélica de Goiás/UniEVANGÉLICA como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE.

Linha de Pesquisa: Farmacologia Clínica e Terapêutica, Farmacologia Básica e Experimental, Aspectos fitoquímicos e farmacológicos de produtos naturais e sintéticos.

Aprovada em 27 de setembro de 2024.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente LOIDE OLIVEIRA SALLUM Data: 02/10/2024 09:12:30-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Lóide Oliveira Sallum

Presidente da Banca

COLUMENTO ASSINADO DE GUINE COLUMENTO SERGIO NAKAO DE AGUIAR Data: 02/10/2024 15:57:42-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Antônio Sérgio Nakao de Aguiar Avaliador Interno

Documento assinado digitalmente VITOR SANTOS DUARTE Data: 02/10/2024 15:44:17-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br

> Prof. Dr. Vitor Santos Duarte Avaliador Externo

Este trabalho é dedicado a Deus, à minha família e a todos que me ajudaram acompanharam e motivaram, ao longo de sua realização.

Dedico especialmente à professora Lóide pela sua orientação, parceria, paciência e profissionalismo. Todo o apoio e atenção dedicados a mim foram imprescindíveis para a conclusão deste trabalho. Gratidão, também, a todos os professores que contribuíram com minha pesquisa e projeto como um todo. E por último e não menos importante, ao Vitor S. Duarte, por me

ajudar tanto nesta jornada. Obrigada!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me ter permitido realizar esta formação tão importante para a minha carreira profissional e para o meu desenvolvimento intelectual.

À professora Dra. Lóide Oliveira Sallum por toda a ajuda e pela orientação assertiva e rica em conhecimento, sempre muito sábia, educada e gentil, me ensinando sempre com muita gentileza e prontidão, tornando possível a execução deste trabalho.

Ao professor Dr. Hamilton Barbosa Napolitano, que com muita sabedoria, humildade e paciência colaborou muito ao longo deste estudo.

A minha família, que foi minha maior incentivadora desde o início deste projeto.

Aos Professores Dr. Ademir J. Camargo, Dr. Marcelo H. Hernandes, Dr. Antônio Sérgio Nakao Aguiar, Dr. Vitor Santos Duarte que gentilmente participaram e contribuiram através de seus diversos conhecimentos com esse trabalho.

Ao incentivo e apoio financeiro fornecidos pelo SENAI Goiás, sem os quais nada disso seria possível.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento e elaboração deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

O Diclofenaco dietilamônio pertence à classe de anti-inflamatórios não esteroidais, e é amplamente utilizado para aliviar a dor e reduzir a inflamação sistêmica. Esse fármaco existe em várias formas polimórficas, o que pode afetar diretamente a capacidade de processamento do fármaco, bem como a dissolução, estabilidade e biodisponibilidade do fármaco. Considerando as diretrizes regulatórias mundiais para polimorfos em substâncias farmacêuticas, uma análise estrutural detalhada de dois polimorfos exibindo as estruturas anidra e monohidratada do diclofenaco dietilamônio é apresentada neste estudo, usando o arranjo supramolecular e sua relação com propriedades físico-químicas estruturais. As estruturas dos polimorfos mostram diferenças conformacionais no grupo carboxílico causada pela molécula de água coordenada na estrutura polimórfica monohidratada. Ambos os polimorfos têm o arranjo supramolecular estabilizado por interações intermoleculares N–H…O e C–H…Cl, mas a molécula monohidratada apresenta uma forte interação intermolecular O-H…O devido à presença da molécula de água. A análise da superfície de Hirshfeld mostrou contatos C–H $\cdots\pi$ $e \pi \cdots \pi$ nos polimorfos anidro e monohidratado, respectivamente. Resultados teóricos, incluindo o efeito solvente com abordagens explícitas e implícitas para água, indicaram a estabilidade cinética do fármaco diclofenaco dietilamônio e mostraram ataques eletrofílicos suscetíveis ocorrendo na região próxima ao átomo de oxigênio da carbonila.

Palavras-chave: diclofenaco dietilamônio; estado sólido, AGOA, M06-2X/6-311++G(d,p).

ABSTRACT

Diclofenac diethylammonium belongs to the class of non-steroidal anti-inflammatory drugs, and it is widely used to relieve pain and reduce systemic inflammation. This drug exists in polymorphic forms, which can directly affect the ability to process the drug, as well as drug product dissolution, stability, and bioavailability. Considering the worldwide regulatory guidance for polymorphs in drug substances, a detailed structural analysis of two polymorphs exhibiting the anhydrous and monohydrated structures of diclofenac diethylammonium is presented here, using the supramolecular arrangement and its relationship with structuralphysicochemical properties. The polymorph's structures show conformational differences in the carboxylic group caused by coordinated water molecules presented in the monohydrated polymorphic structure. Both polymorphs have the supramolecular arrangement stabilized by $N-H\cdots O$ and $C-H\cdots Cl$ intermolecular interactions, but the monohydrated molecule presents a strong O–H···O intermolecular interaction due to the presence of a water molecule.. Hirshfeld surface analysis showed C-H··· π and π ··· π contacts in the anhydrous and monohydrated polymorphs, respectively. Theoretical results, including solvent effect with explicit and implicit approaches for water, indicated the kinetic stability of the diclofenac diethylammonium drug and showed susceptible electrophilic attacks occurring in the region close to the carbonyl oxygen atom.

Keywords: *diclofenac diethylammonium; solid state, solvent effect, ab initio.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Representação esquemática de uma rede cristalina e da cela unitária com seus parâmetros de caracterização
Figura 02 - Representação das 14 redes Bravais15
Figura 03 - ORTEP representation of the asymmetric unit, omitting hydrogen atoms, for DDEA (a), and DDEA.H ₂ O (b), with the atom numbering scheme. Ellipsoids are drawn at the 50% probability level. (c) Structure overlay for DDEA and DDEA.H ₂ O
Figura 04 - Comparison graphs of the geometric parameters (a) bond length and (b) angle, obtained by X-ray diffraction, for the DDEA and DDEA.H ₂ O
Figura 05 - The HS showing interactions: N ₂ –H ₂ AO ₂ ; N ₂ –H ₂ BO ₁ ; C ₁₀ –H ₁ 0O ₂ ; C ₁₉ –H ₁₉ AC ₁₁ (a), C ₁₇ –H ₁₇ AO1 (b), C20–H20B π (c) found in the crystal packing for DDEA. For DDEA.H ₂ O, the HS showing interactions: O ₃ W–H ₃ WAO ₂ (d), O ₃ W–H ₁₃ WBO ₁ (e), N ₂ –H ₂ AO ₁ (f), N ₂ –H ₂ BO ₃ W (g), C ₅ –H ₅ Cl ₂ (h) and π π stacking (i)
Figura 07 - NBO orbital represented at M062X/6-311++G(d,p) level of theory with the isovalue of 0.05 atomic units. HOMO " π " -bonding orbital for DDEA (a) and DDEA.H ₂ O (c). LUMO π -antibonding orbital for DDEA (b) and DDEA.H ₂ O (d)
Figura 08 - The molecular electrostatic potential surface was mapped for diclofenac diethylammonium DDEA (a) and DDEA.H ₂ O (b), showing the red-colored and the blue-colored regions, which are the regions rich in electrons and electron depleted, respectively. The density isovalue of 4.0×10^{-4} electrons/bohr3 was used to generate the molecular electrostatic potential surfaces
Figura 09 - Solvent effect comparison for implicit (SCRF-CPCM) and explicit (AGOA/BSSE) methods, considering 10 water molecules at the maximum (#01 to #10) and 10 water molecules at the minimum (#11 to #20) MEP regions of the supermolecule (diclofenac + diethylamine). Calculations were performed at M062X and basis set $6-311++G(d,p)^{38}$
Figura 10 - Explicit water molecule obtained from AGOA: (a) 10 from maximum (#01 to #10) and (b) 10 from minimum (#11 to #20) MEP points. Calculations were performed at M06-2X and basis set 6-311++G(d,p)

Tabela 01 - Apresentação dos sete sistemas cristalinos com suas respectivas restrições dos parâmetros axiais e angulares
Tabela 02 - Crystallographic and refinement data of DDEA and DDEA.H2O drugs
Tabela S1. Geometric parameters of DDEA and DDEA.H ₂ O, obtained from the crystallographic data
Tabela S2. Interaction energies for diclofenac diethylamine, considering the solvent effect with water molecules added using the AGOA procedure

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DDEA	Diclofenaco Dietilamônio
DDEA.H ₂ O	Diclofenaco Dietilamônio Monohidratado
AINE	Antiinflamatórios Não-Esteroidais
COX	Ciclo Oxigenase
BCS	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
CCDC	Cambridge Cristallographic Data Centre
HS	Hirshfeld surfaces

1. INTRODUÇÃO	
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1 Simetria do Estado Sólido Cristalino	15
3.2 Difração dos raios X	
3.3 Transformada de Fourier	19
3.4 Problema da Fase e Métodos diretos	20
3.5 Etapas do trabalho cristalográfico	20
3.5.1 Cristalização	20
3.5.2 Coleta de dados	21
3.5.3 Resolução e refinamento	21
3.5.4 Análise e validação do modelo cristalográfico	21
3.5.5 Depósito no banco de dados apropriado	
4. METODOLOGIA	
4.1 Obtenção das Estruturas Cristalinas	
4.2 Análise de Superfície de Hirshfeld	
4.3 Análise Estrutural Computacional	
4.4 Cálculo dos Orbitais de Fronteira	
4.5 Mapa de Potencial Eletrostático Molecular	
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
7. MATERIAL SUPLEMENTAR	
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXO – ARTIGO PUBLICADO	

1. INTRODUÇÃO

O diclofenaco é um anti-inflamatório não esteroidal (AINE) e seus efeitos terapêuticos ocorrem pela inibição da síntese de prostaglandinas pela ciclo-oxigenase (COX) (GAN, 2010; SALLMANN, 1986). O diclofenaco dietilamônio [2-(2,6–diclorofenilamino)fenil] (DDEA) foi projetado para aplicação tópica com o objetivo de aliviar a dor, reduzir a inflamação e diminuir o inchaço em condições dolorosas que afetam as articulações e os músculos. DDEA é absorvido através da pele, e segue através de tecidos inflamados profundos, em vez de na corrente sanguínea. DDEA é um pó cristalino branco a levemente amarelado e é uma droga higroscópica. É um fármaco classe II do sistema de classificação biofarmacêutica (BCS) com solubilidade em álcool (etanol e metanol); É ligeiramente solúvel em água e acetona e praticamente insolúvel em éter e hidróxido de sódio (FUSARO, 2006; GONDOLPH-ZINK; GRONWALD, 1996; MANOSROI; JANTRAWUT; MANOSROI, 2008; PARSAEE; SARBOLOUKI; PARNIANPOUR, 2002).

O polimorfismo molecular compreende variações na conformação molecular dentro do mesmo composto químico no estado sólido – isso significa que a mesma molécula pode ser encontrada em diferentes formas cristalinas (PUROHIT; VENUGOPALAN, 2009). Em química do estado sólido, o polimorfismo é descrito por diferentes e distintas fases sólidas em mais de um arranjo tridimensional, e com frequentes diferenças na forma molecular e interações intermoleculares, também mostrando diferentes propriedades físico-químicas. Algumas dessas propriedades, em particular a solubilidade e a taxa de dissolução, são importantes na determinação da taxa de absorção de fármacos que respondem pelo desenvolvimento de uma formulação adequada (B.CHUASUWAN et al., 2009; LLINÀS et al., 2007; PALOMO; BALLESTEROS; FRUTOS, 1999). Assim, o polimorfismo de substâncias farmacêuticas no estado sólido é de grande interesse nas formulações, pois a melhoria na compreensão desse fenômeno, particularmente em Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) e seus intermediários, é de crescente interesse na indústria farmacêutica.

As drogas de diclofenaco apresentam polimorfismo de conformação, como descrito por Morales et al. (MORALES-TOYO et al., 2021), e Goswami et. al. (GOSWAMI; KUMAR; RAMANAN, 2020), e cristalizam em diferentes sistemas cristalinos. Comparação entre as estruturas polimorfas do DDEA e o acetato de [2-(2,6-diclorofenilamino)fenil] dietilamônio hidratado (DDEA.H₂O) tem uma implicação farmacêutica significativa, uma vez que a biodisponibilidade do fármaco é influenciada pelos efeitos da molécula de água sobre o arranjo supramolecular dos fármacos diclofenaco (CASTELLARI; SABATINO, 1994, 1996). O DDEA pode apresentar propriedades físico-químicas diferentes do DDEA.H₂O, como hidrato de diclofenaco contém moléculas de água em sua estrutura, o que pode afetar sua estabilidade, exigindo condições específicas para preservar sua integridade molecular. Portanto, entendendo as diferenças estruturais entre DDEA e DDEA.H₂O no estado sólido é essencial para garantir a eficácia (BARTOLOMEI et al., 2007; ELDER; PATTERSON; HOLM, 2015; LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011; LEVINA et al., 2018). Polimorfismo e variações no estado sólido desses fármacos são aspectos críticos a serem considerados no desenvolvimento, armazenamento e consumo final desses fármacos (BHATIA et al., 2018; CENSI; DI MARTINO, 2015; HILFIKER, 2006; HUANG, 2004; RODRÍGUEZ-SPONG, 2004; SAIFEE *et al.*, 2010).

O presente trabalho sobre a estrutura cristalina do diclofenaco dietilamônio [2-(2,6-diclorofenilamino)fenil]acetato (DDEA) e (DDEA. H₂O) foi realizado como parte de um estudo sobre formas polimórficas, com o objetivo de estudar as arquiteturas supramoleculares e estudos topológicos no estado sólido de DDEA e DDEA.H₂O pela análise da superfície de Hirshfeld (HS) e estudo teórico no nível M06-2X/6-311++G(d,p) da teoria (https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x). Este trabalho também mostra o orbital molecular de fronteira (FMO), potencial eletrostático molecular (MEP), e inclui um estudo com moléculas de água explícitas e implícitas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Descrever a análise estrutural comparativa dos polimorfos anidro e monohidratado do diclofenaco dietilamônio objetivando as implicações para a estabilidade, dissolução e biodisponibilidade desses fármacos.

2.2 Objetivos específicos

(1) Descrever o arranjo supramolecular dos polimorfos anidro e monohidratado do diclofenaco dietilamônio através da superfície de Hirshfeld (SH);

(2) Caracterizar eletronicamente através dos orbitais de fronteira e das superfícies de potencial eletrostático o estado sólido cristalino dos polimorfos anidro e monohidratado do diclofenaco dietilamônio;

(3) Analisar a força da interação entre as moléculas do fármaco e a água através do software AGOA, bem como, a afinidade das moléculas do fármaco consigo mesmas.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Simetria do Estado Sólido Cristalino

A cristalografia é um poderoso método de análise estrutural empregado na elucidação de estruturas tridimensionais através da difração de Raios X. Através dessa técnica a posição atômica de todos os átomos de uma molécula pode ser determinada. A estrutura alvo dos estudos cristalográficos são os cristais, cujo a principal característica é o alto grau de ordenação interna. Os cristais são estruturas formadas por repetições translacionais de moléculas em todas as direções, ou seja, por uma repetibilidade de uma estrutura singular e representativa denominada de cela unitária (CLEGG, 2015). Para a obtenção da difração por raios X o cristal deve apresentar simetria translacional para permitir que um padrão de difração seja gerado. Isso remete a um conceito característico da cristalografia, onde uma amostra cristalina será caracterizada a partir de uma unidade fundamental através das operações de simetria. A translação é uma operação de simetria característica do cristal que apresenta um padrão de repetição de sua estrutura singular e representativa (GIACOVAZZO, 2012).

Além da translação existem outras operações de simetria. Essas operações ocorrem a partir da análise dos elementos de simetria da molécula. Um ponto, um eixo e um plano são o que constituem os elementos de simetria. A operações de simetria podem ser caraterizadas em inversão (em relação a um ponto), rotação (em torno de um eixo) e reflexão (através de um plano). Essas operações podem ainda ser combinadas e dar origem a operações de simetria compostas do tipo roto-reflexão e roto-inversão (GLUSKER; TRUEBLOOD, 2010). Para entender a organização do cristal é necessário compreender os elementos e as operações de simetria que se aplicam na estrutura cristalina em questão, para assim elucidar como ocorre a repetibilidade da unidade capaz de representar o todo. Nesse sentido a simetria translacional irá descrever a repetição periódica dada em intervalos regulares da rede cristalina notados a partir do comprimento, área ou volume, enquanto a simetria pontual irá descrever a repetição periódica entorno de um ponto. Os dois tipos de simetria citados são imprescindíveis para a compreensão dos grupos espaciais cristalográficos (GIACOVAZZO, 2012).

A simetria translacional presente no cristal permite que inúmeras moléculas idênticas sejam arranjadas de maneira periódica e padronizada em todas as direções. Essa periodicidade só pode ser formada a partir da simetria translacional que é característica do estado sólido cristalino. Contudo, nem todos os sólidos apresentam essa organização pautada em um padrão regular de repetição e, portanto, não são sólidos cristalinos e assim são denominados de sólidos amorfos (CLEGG, 2015; CULLITY, 1978). A cela unitária, característica dos sólidos cristalinos, pode ser comparada a um paralelepípedo que, de maneira translacional, se repete inúmeras vezes conforme ilustrado na Figura 1 para a formação da rede cristalina (GIACOVAZZO, 2012). A descrição da cela unitária caracteriza-

se pelos vetores a, b e c que são utilizados para definir suas arestas e por α , β e γ utilizados para descrever os ângulos entre as arestas. O ângulo formado entre os eixos b e c é α , entre os eixos a e c têm-se β e entre a e b têm-se γ (GLUSKER; TRUEBLOOD, 2010).



Figura 1 - Representação esquemática de uma rede cristalina e da cela unitária com seus parâmetros de caracterização.

A rede cristalina é uma estrutura representativa do sólido cristalino. Ela é constituída de um conjunto de pontos idênticos em um arranjo infinito e regular replicado nos sentidos dos vetores a b e c, formando assim o padrão de vizinhança, onde cada ponto desse modelo, através da simetria translacional, é equivalente ao ponto vizinho (CULLITY, 1978). De acordo com os valores expressos em cada eixo e em cada ângulo, ou seja, os parâmetros que definem a cela unitária, os cristais poderão ser classificados em 7 diferentes tipos de sistemas cristalinos conforme descritos na Tabela 1 (LADD; PALMER, 2013).

and e ungulates.		
Sistema cristalino	Valores axiais	Valores angulares
Triclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \gamma = 90^{\circ}, \beta \neq 90^{\circ}$
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^{\circ}$
Tetragonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^{\circ}$
Trigonal	a = b = c	$\alpha = \beta = \gamma \neq 90^{\circ}$
Hexagonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^{\circ}, \gamma = 120^{\circ}$
Cúbico	a = b = c	$\alpha = \beta = \gamma = 90^{\circ}$

Tabela 1 - Apresentação dos sete sistemas cristalinos com suas respectivas restrições dos parâmetros axiais e angulares.

Os sete sistemas cristalinos ordenados de maneira crescente em simetria são: triclínico, monoclínico, ortorrômbico, tetragonal, trigonal, hexagonal e cúbico. Sem realizar alterações na métrica, é possível produzir o sistema hexagonal partindo-se do sistema trigonal e por isso, o sistema hexagonal é frequentemente considerado como uma variável do sistema trigonal (LADD; PALMER,

2013). O tipo de rede pode ser determinado pelo número de pontos por cela unitária, caso uma cela apresente somente pontos nos vértices ela será representada pela letra P e será denominada como primitiva, com um ponto no centro será chamada de corpo centrado e será representada por I, faces centradas são representadas por F e utilizamos A, B ou C quando centrados nessas mesmas faces (CLEGG, 2015). Os elementos da simetria pontual (simetria de Laue) serão responsáveis por definir os sistemas cristalinos, as combinações entre as simetrias de rede primitiva com os diferentes tipos de centragem de cela devido ao padrão de vizinhança levam a 14 resultados distintos conhecidos como 14 redes de Bravais como representados na Figura 2 (GIACOVAZZO, 2012).



Figura 2 - Representação das 14 redes de Bravais.

3.2 Difração dos raios X

Os raios X são uma forma de radiação eletromagnética com comprimentos de onda na faixa de 0,01 a 10 nanômetros, situando-se entre a luz ultravioleta e os raios gama no espectro eletromagnético. Descobertos por Wilhelm Conrad Roentgen em 1895, os raios X revolucionaram diversas áreas da ciência e da tecnologia, como a cristalografia. A difração dos raios X é baseada na

interação entre os raios X e os átomos do cristal, resultando em um padrão de interferência que pode ser analisado para revelar informações sobre a estrutura do cristal (CULLITY, 1978; GIACOVAZZO, 2012).

A base teórica para a difração dos raios X em cristais é a Lei de Bragg, formulada por William Henry Bragg e William Lawrence Bragg em 1913. A Lei de Bragg relaciona os ângulos nos quais os raios X são difratados pelos planos atômicos de um cristal. Essa lei é expressa pela Equação 1:

$$2d_{hkl}sen\,\theta = n\lambda\tag{1}$$

onde *n* é um inteiro representando a ordem do máximo de difração, λ é o comprimento de onda dos raios X, d_{hkl} é a distância entre os planos cristalinos (*hkl*) enquanto θ é o ângulo de incidência dos raios X (BRAGG & BRAGG, 1913). Esta equação mostra que a difração ocorre quando a diferença de caminho entre as ondas refletidas por planos cristalinos adjacentes é um múltiplo inteiro do comprimento de onda dos raios X. A Lei de Bragg é essencial para a determinação das distâncias interplanares em um cristal, permitindo a análise da sua estrutura interna (GIACOVAZZO, 2012).

A difração de raios X é o fenômeno em que está fundamentada a metodologia cristalográfica dos raios X, uma vez que este fenômeno permite a elucidação da estrutura cristalina de uma amostra, sem nenhuma informação a priori (NAPOLITANO et al., 2007). A amostra (cristal) em que o raio X é incidido e espalhado é chamado de espaço direto, e o padrão de difração resultante existe em um espaço recíproco ao espaço direto. Os átomos que recebem a radiação dos raios X, são considerados centros espalhadores. Cada átomo dentro da célula unitária de um cristal contribui para o espalhamento dos raios X que incidem sobre ele. O fator de estrutura (F(hkl)) é uma medida da intensidade das ondas difratadas em uma direção específica, determinada pelos índices de Miller hkl, e leva em consideração a contribuição de cada átomo como um centro espalhador. Os átomos espalham os raios X devido à interação das ondas eletromagnéticas com os elétrons ao redor dos núcleos atômicos (STOUT & JENSEN, 1989). Cada átomo age como uma fonte de ondas secundárias que interferem entre si, dependendo de suas posições relativas. A interferência construtiva ou destrutiva dessas ondas espalhadas é o que gera os padrões de difração observados. A intensidade do feixe difratado em uma direção específica é determinada pela magnitude do fator de estrutura [Fhkl]². Quando a soma das ondas espalhadas pelos átomos em uma direção particular é construtiva, a intensidade será alta, resultando em picos de difração. Caso contrário, a interferência destrutiva levará a intensidades baixas ou nulas (WARREN, 1990; ALS-NIELSEN & MCMORROW, 2011; STOUT & JENSEN, 1989).

O fator de estrutura F(hkl) considera as contribuições de todos os átomos na célula unitária para a intensidade da difração em uma determinada direção. A análise do fator de estrutura permite a

identificação das posições atômicas e a determinação da estrutura cristalina completa. O fator de estrutura, é dado pela Equação 2:

$$F_{hkl} = \sum_{j=1}^{N} f_j^{2\pi i (hx_j + ky_j + lz_j)}$$
(2)

onde, hkl são os índices de Miller dos planos cristalinos, f_j é o fator de espalhamento atômico, xj, yj, zj são as coordenadas fracionárias dos átomos da célula unitária.

3.3 Transformada de Fourier

A Transformada de Fourier é uma ferramenta matemática essencial na análise de frequências de sinais e funções, essa transformada é um método para decompor uma função em suas componentes de frequência. Para uma função f(x), a transformada de Fourier é definida como mostrado na Equação 3:

$$F(k) = \int_{-\infty}^{\infty} f(x) \cdot e^{-2\pi kx} dx$$
(3)

onde F(K) é a representação da função f(x) no domínio da frequência, e k é a frequência. A inversa da transformada de Fourier permite a reconstrução da função original a partir de suas componentes de frequência, como mostrado na Equação 4:

$$f(x) = \int_{-\infty}^{\infty} F(k) \cdot e^{-2\pi kx} dk$$
(4)

Na cristalografia, a transformada de Fourier é uma ferramenta matemática fundamental que permitindo a ligação entre os dados de difração e a estrutura atômica dos cristais. Na cristalografia de raios X é assumido por hipótese que a Transformada de Fourier inversa para o fator de estrutura F(hkl) representa a densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$ (GIACOVAZZO, 2002; WOOLFSON, 1997) para a estrutura, como mostrado na Equação 5:

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{h}} |F(\mathbf{h})| e^{-2\pi i \, \mathbf{h} \cdot \mathbf{r} + i \phi(\mathbf{h})} = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{h}\mathbf{k}\mathbf{l}} |F(\mathbf{h}\mathbf{k}\mathbf{l})| e^{-2\pi i \, [\mathbf{h}\mathbf{x} + \mathbf{k}\mathbf{y} + \mathbf{l}\mathbf{z} + \phi(\mathbf{h}\mathbf{k}\mathbf{l})]}$$
(5)

A aplicação eficaz dessas transformadas permite avanços significativos na compreensão da estrutura e das propriedades dos materiais cristalinos, todavia, a fase ($\emptyset hkl$) de cada fator de

estrutura, essencial para a reconstrução precisa da densidade eletrônica, não é diretamente medida e constitui o "problema da fase" na cristalografia.

3.4 Problema da Fase e Métodos diretos

Quando raios X interagem com um cristal, eles são difratados de acordo com a distribuição periódica dos átomos no cristal. Os dados de difração resultantes são representados por picos de intensidade em um padrão de difração. A intensidade de cada pico é proporcional ao quadrado do módulo do fator de estrutura F|hkl| que contém informações tanto sobre a amplitude quanto sobre a fase das ondas espalhadas. Matematicamente, o fator de estrutura F(hkl) é uma função complexa, que pode ser dado pela Equação (6):

$$F(hkl) = |F(hkl)|e^{i\phi hkl}$$
(6)

onde, F(hkl) é a amplitude, que pode ser diretamente relacionada à intensidade medida e $\emptyset(hkl)$ é a fase, que não pode ser medida diretamente. A ausência da informação de fase $\emptyset(hkl)$ impede a aplicação direta da transformada de Fourier inversa para obter a densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$ a partir dos dados de difração. Sem as fases, é impossível realizar essa transformação de forma precisa, dificultando a reconstrução da distribuição de densidade eletrônica e, consequentemente, a determinação da posição dos átomos no cristal. Diversas técnicas foram desenvolvidas para estimar as fases e superar o problema da fase. Uma das mais notórias são os "Métodos diretos". Os Métodos diretos procuram obter diretamente as fases dos fatores de estrutura F(hkl) através de relações matemáticas a partir de um conjunto de intensidades medidas experimentalmente, os Métodos diretos estão fundamentados na positividade e na atomicidade da densidade eletrônica relacionando a fase e o fator de estrutura (BLAKE & CLEGG, 2009; GIACOVAZZO, 2002; WOOLFSON, 1997).

3.5 Etapas do trabalho cristalográfico

A metodologia Cristalografia dos raios X, pode ser classificada em algumas etapas, como (3.5.1) Cristalização, (3.5.2) Coleta de dados, (3.5.3) Resolução e refinamento, (3.5.4) Análise e validação do modelo cristalográfico, (3.5.5) Depósito no banco de dados apropriado.

3.5.1 Cristalização

A cristalização é o processo de obter cristais que são adequados para experimentos de difração de raios X. Dentre os procedimentos, é realizado a preparação da solução, onde a amostra é dissolvida em uma solução apropriada, com a variação de diversas condições (pH, temperatura, concentração

de sal, precipitantes) que são testadas para encontrar aquelas que promovem a cristalização. Dentre os métodos de cristalização, existem métodos com a evaporação lenta, resfriamento lento, difusão a vapor, difusão de solvente, convecção e adição de aditivos (variação do pH).

3.5.2 Coleta de dados

A coleta de dados envolve a obtenção de um padrão de difração de raios X dos cristais. Este padrão contém as informações necessárias para determinar a estrutura do cristal. O cristal é montado em um suporte e colocado no caminho do feixe de raios X, onde é irradiado com raios X e a medida que os raios X passam pelo cristal, eles são difratados. Os raios X difratados são detectados por um detector, que registra a intensidade e a posição dos picos de difração.

3.5.3 Resolução e refinamento

Na etapa de solução da estrutura os dados coletados na difração de raios X são interpretados como um mapa de densidade eletrônica, e através dessa mapa de densidade é possível determinar os parámetros geométricos correspondes a cela unitaria do composto. Para solução da estrutura utilizamos de alguns softwares que interpretam os dados coletados em um mapa de densidade eletrônica, o software mais amplamente utilizado é o SHELXS (SHELDRICK, 1990). A apartir da estrutura resolvida, é realizado o refinamento da estrutura, que é a etapa de construção do modelo cristalográfico para a estrutura em estudo. Um modelo inicial é construído com base nas fases obtidas e na densidade eletrônica preliminar, o modelo é ajustado iterativamente para melhorar o ajuste entre a densidade eletrônica calculada e a observada, isso pode incluir ajustar a posição dos átomos, as ângulos de ligação, e as conformações das cadeias laterais. Durante o refinamento, restrições e restrições são aplicadas para garantir que a geometria do modelo permaneça dentro de limites físicos e químicos razoáveis, o software utilizado para o refinamento é o SHELXL (MÜLLER *et al.*, 2010; SHELDRICK, 2015). O refinamento utiliza o método dos dos mínimos quadrados, onde o quadrado do somatorio dos erros é minimizada através de uma função que é dada pela Equação (7).

$$M = \sum_{h} W_{h} \left[|F(h)_{obs}| - |F(h)_{cal}| \right]^{2}$$
(7)

3.5.4 Análise e validação do modelo cristalográfico

Com o modelo cristalográfico construido, é possível analizar alguns parámetros estruturais, como as interações intermoleculares das moléculas que estão relacionadas com o empacotamento molecular, para tal analise, destacamos alguns softwares como o Mercury (MACRAE *et al.*, 2006) e o CrystalExplorer (S.K. WOLFF, D.J. GRIMWOOD, J.J. MCKINNON, M.J. TURNER, D. JAYATILAKA, 2012; SPACKMAN *et al.*, 2021a; TURNER *et al.*, 2017). Na validação da estrutura

é analisado os possíveis erros cometidos na elucidação estrutural, para garantir a qualidade e confidenbicialidade da estrutura determinada, para a validação softawares como o Platon é utilizado(SPEK, 2003).

3.5.5 Depósito no banco de dados apropriado

O modelo cristalográfico determinado, é gerado no formato de arquivo CIF (*Crystallography Information File*) e nos bancos de dados apropriados como o Cambridge Structural Database (CSD) do Cambridge Cristallographic Data Centre (CCDC) e o Protein Data Bank (PDB). Esses arquivos uma vez depositados, se tornam públicos e podem ser consultados e utilizados para diversos estudos de outros pesquisadores, como foi o caso das estruturas utilizadas neste trabalho, que foram obtidas no CCDC.

4. METODOLOGIA

Para investigar as propriedades e interações dos polimorfos anidro e monoidratado do diclofenaco dietilamônio, adotou-se uma abordagem teórica integrada que combina técnicas computacionais avançadas. Iniciou-se a análise com a obtenção das estruturas cristalinas dos polimorfos a partir do banco de dados Cambridge Crystallography Data Centre (CCDC) com os códigos 150469 e 163917, respectivamente. Em seguida, as geometrias moleculares foram refinadas por meio de cálculos teóricos, utilizando a teoria funcional da densidade (DFT). Para explorar as interações intermoleculares e os aspectos eletrostáticos das estruturas, foram realizadas análises detalhadas das superfícies de Hirshfeld e dos orbitais moleculares de fronteira. Adicionalmente, o mapa MEP foi gerado para fornecer uma visão tridimensional da distribuição de cargas. Utilizou-se ainda o software AGOA a fim de determinar na molécula anidra qual a molécula mais estável e a parte da mesma onde há maior interação com o seu contra-íon. Essas metodologias combinadas oferecem uma compreensão abrangente das características estruturais e interativas dos polimorfos estudados.

4.1 Obtenção das Estruturas Cristalinas

A obtenção das estruturas cristalinas dos polimorfos anidro e monoidratado do diclofenaco dietilamônio foi realizada utilizando dados disponíveis no banco de dados Cambridge Crystallography Data Centre (CCDC). O código 150469 foi utilizado para o polimorfo anidro, enquanto o código 163917 corresponde ao polimorfo monoidratado. As estruturas cristalinas foram visualizadas e analisadas utilizando o software ORTEP (Ortep-3 for Windows), que é amplamente

utilizado para gerar representações tridimensionais de estruturas cristalinas. O ORTEP proporciona uma visualização clara da estrutura molecular ao apresentar as posições dos átomos e as ligações entre eles em um modelo tridimensional. Este software é útil para a interpretação das orientações espaciais das moléculas dentro da célula unitária do cristal, permitindo uma análise detalhada das interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio e forças de van der Waals. A representação visual obtida com ORTEP é essencial para compreender a organização e o empacotamento das moléculas no cristal, além de auxiliar na identificação de padrões estruturais importantes para as análises subsequentes.

4.2 Análise de Superfície de Hirshfeld

A análise da superfície de Hirshfeld foi realizada para entender as interações intermoleculares nos cristais. O software Crystal Explorer foi utilizado para gerar as superfícies de Hirshfeld, que mostram a distribuição de áreas de contato entre moléculas no cristal. Estas superfícies ajudam a visualizar como as moléculas interagem entre si e revelam a natureza das interações intermoleculares, a distância entre as ligações, assim como ligações de hidrogênio e forças de van der Waals.

As superfícies de Hirshfeld são especialmente úteis para identificar quais regiões das moléculas estão mais envolvidas em interações com outras moléculas vizinhas. Além disso, foram produzidos gráficos *Fingerprints* para quantificar e comparar as interações entre as diferentes formas polimórficas. Esses gráficos fornecem uma representação gráfica das contribuições relativas de diferentes tipos de interações intermoleculares e permitem uma análise comparativa detalhada entre os polimorfos anidro e monoidratado.

4.3 Análise Estrutural Computacional

As estruturas cristalinas obtidas foram submetidas a uma otimização teórica utilizando a teoria funcional da densidade. Esta abordagem computacional é amplamente empregada para prever e refinar geometrias moleculares com alta precisão. O software Gaussian foi utilizado para realizar cálculos DFT, empregando a função M06-2X e o conjunto de bases 6-311++G(d,p). O funcional M06-2X (https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x) é conhecido por sua capacidade de descrever interações não covalentes com precisão, o que é particularmente relevante para sistemas cristalinos onde as interações intermoleculares desempenham um papel crucial (Alcock, N. W. Bonding and Structure. New York: Ellis Horwood, 1990. Capitulo 7 e 10.

O conjunto de bases 6-311++G(d,p) é uma base de dados ampliada que inclui funções difusas e funções polares, proporcionando uma descrição mais detalhada da distribuição de elétrons ao redor

dos átomos e melhorando a precisão dos cálculos. A otimização teórica garantiu que as geometrias das moléculas fossem ajustadas para representar as configurações de menor energia, resultando em modelos que refletem com precisão as condições naturais das moléculas no cristal.

4.4 Cálculo dos Orbitais de Fronteira

Os orbitais moleculares de fronteira, HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), foram calculados para avaliar a reatividade química dos polimorfos. O HOMO representa a maior densidade de elétrons na molécula (átomos doadores), enquanto o LUMO é o orbital que aceita os elétrons durante as reações químicas.

A diferença de energia entre o HOMO e o LUMO, conhecida como *gap* de energia, é um indicador chave "para a predição" da estabilidade e da reatividade química das moléculas. Um *gap* de energia menor geralmente indica uma maior reatividade química, enquanto um gap maior sugere maior estabilidade. Os cálculos foram realizados utilizando o software GaussView, e os resultados fornecem informações importantes sobre a propensão dos polimorfos a participar de reações químicas, o que pode ser útil para prever seu comportamento em diferentes ambientes e condições.

4.5 Mapa de Potencial Eletrostático Molecular

O Mapa foi gerado para analisar a distribuição de cargas eletrostáticas ao redor das moléculas. Esta análise foi realizada utilizando os dados de potencial eletrostático obtidos através do software GaussView, que calculou o potencial em uma malha tridimensional ao redor das moléculas.

O MEP revela as regiões de alta e baixa densidade eletrônica na superfície das moléculas, evidenciadas por diferentes cores no mapa. Essas regiões são importantes para prever como as moléculas interagem com outras espécies químicas, como na formação de ligações de hidrogênio ou em interações eletrostáticas. A análise do MEP ajudou a identificar as áreas mais propensas a interações químicas e forneceu insights sobre a forma como os polimorfos poderiam se comportar em ambientes variados, facilitando a compreensão das propriedades e do comportamento dos polimorfos em diferentes contextos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparative Structural Analysis of Anhydrous and Monohydrated Polymorphs of Diclofenac Diethylammonium: Implications for Stability, Dissolution, and Bioavailability

Lóide O. Sallum¹, Waléria N. Siqueira², Antônio S. N. Aguiar¹, Vitor S. Duarte^{2,3}, Samuel B. S. Sales¹, Géssika Lobo¹, Marcelo Z. Hernandes⁴, Ademir. J. Camargo^{1,3} and Hamilton B. Napolitano^{1,3*}

¹ Laboratório de Novos Materiais, Universidade Evangélica de Goiás, Anápolis, GO, Brazil.

² Laboratório de Polimorfismo Molecular, Faculdade SENAI Roberto Mange, Anápolis, GO, Brazil.

³ Grupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO, Brazil.

⁴Laboratório de Química Teórica Medicinal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

* Corresponding author: Lóide O. Sallum (loide.sallum@gmail.com)

Abstract

Diclofenac diethylammonium belongs to the class of non-steroidal anti-inflammatory drugs, and it is widely used to relieve pain and reduce systemic inflammation. This drug exists in polymorphic forms, which can directly affect the ability to process the drug, as well as drug product dissolution, stability, and bioavailability. Considering the worldwide regulatory guidance for polymorphs in drug substances, a detailed structural analysis of two polymorphs exhibiting the anhydrous and monohydrated structures of diclofenac diethylammonium is presented here, using the supramolecular arrangement and its relationship with structural-physicochemical properties. The polymorph's structures show conformational differences in the carboxylic group caused by coordinated water molecules presented in the monohydrated polymorphic structure. Both polymorphs have the supramolecular arrangement stabilized by N-H···O and C-H···Cl intermolecular interactions, but the monohydrated molecule presents a strong O-H···O intermolecular interaction due to the presence of a water molecule. Hirshfeld surface analysis showed C-H··· π and π ··· π contacts in the anhydrous and monohydrated polymorphs, respectively. Theoretical results, including solvent effect with explicit and implicit approaches for water, indicated the kinetic stability of the diclofenac diethylammonium drug and showed susceptible electrophilic attacks occurring in the region close to the carbonyl oxygen atom.

Keywords: diclofenac diethylammonium; solid state, solvent effect, ab initio.

1. Introduction

Diclofenac is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), and its therapeutic effects occur by inhibiting the synthesis of prostaglandins by cyclo-oxygenase (COX)(GAN, 2010; SALLMANN, 1986). Diethylammonium [2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl] acetate (DDEA) is designed for topical application to relieve pain, reduce inflammation, and decrease swelling in painful conditions that affect the joints and muscles. DDEA is absorbed through the skin, and follows through in deep inflamed tissues, rather than in the bloodstream. DDEA is a white to light beige crystalline powder and is a hygroscopic drug. It is a biopharmaceutical classification system (BCS) class II drug with solubility in alcohol (ethanol and methanol); it is slightly soluble in water and acetone and practically insoluble in ether and sodium hydroxide(FUSARO, 2006; GONDOLPH-ZINK; GRONWALD, 1996; MANOSROI; JANTRAWUT; MANOSROI, 2008; PARSAEE; SARBOLOUKI; PARNIANPOUR, 2002).

Molecular polymorphism comprises variations on molecular conformation within the same chemical compound in the solid state – It means that the same molecule can be found in different crystal forms(PUROHIT; VENUGOPALAN, 2009). In solid state chemistry, polymorphism is described by different and distinct solid phases in more than one three-dimensional arrangement, and with frequent differences in molecular shape and intermolecular interactions, also showing different physical-chemical properties. Some of these properties, in particular solubility and dissolution rate, are important in determining the uptake rate of drugs that account for developing an appropriate formulation (B.CHUASUWAN et al., 2009; LLINÀS et al., 2007; PALOMO; BALLESTEROS; FRUTOS, 1999). Thus, the polymorphism of solid-state pharmaceutical substances is of great interest in the formulations because the improvement in comprehension of this phenomena(DAVIS; KORTER, 2022), particularly in active pharmaceutical ingredients (APIs) and their intermediates, is of increasing interest in the pharmaceutical industry(MORRISON et al., 2022).

Diclofenac drugs show conformation polymorphism, as described by Morales et. al.(MORALES-TOYO et al., 2021), and Goswami et. al.(GOSWAMI; KUMAR; RAMANAN, 2020), and they crystallize in different crystal systems. A comparison between the polymorph structures of DDEA and hydrated DDEA has a significant pharmaceutical implication, since drug bio-availability is influenced by the effects of the water molecule on the supramolecular arrangement of diclofenac drugs(CASTELLARI; SABATINO, 1994, 1996). DDEA can present different physical-chemical properties from DDEA.H₂O, which can affect its stability, requiring specific conditions to preserve its molecular integrity(KHALIL; NAJJAR; SALLAM, 2000; O'CONNOR; CORRIGAN, 2001a, 2001b). Therefore, understanding the structural differences between DDEA and DDEA.H₂O in the solid state is essential to ensure efficacy(BARTOLOMEI et al., 2007; ELDER; PATTERSON; HOLM, 2015; LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011; LEVINA et al., 2018). Polymorphism and

variations in the solid state of these drugs are critical aspects to be considered in the development, storage, and final consumption of these drugs(BHATIA et al., 2018; CENSI; DI MARTINO, 2015; HILFIKER, 2006; HUANG, 2004; RODRÍGUEZ-SPONG, 2004; SAIFEE et al., 2010).

The present structural work on the crystalline structure of DDEA and DDEA. H_2O was performed as part of a study on polymorphic forms, aiming to study the supramolecular architectures and topological studies of solid-state DDEA and DDEA. H_2O by Hirshfeld surface (HS) analysis and theoretical study at the M06-2X/6-311++G(d,p) level of theory. This paper also shows the frontier molecular orbital (FMO), molecular electrostatic potential (MEP), and includes a study with explicit and implicit water molecules.

2. Computational procedures

2.1. Hirshfeld surface analysis

The DDEA and DDEA.H₂O structures were extracted from the Cambridge Crystallography Data Centre (CCDC)(GROOM et al., 2016) with the codes 150469 and 163917(CASTELLARI; COMELLI; OTTANI, 2001), respectively. HS(MCKINNON; FABBIANI; SPACKMAN, 2007; SPACKMAN; JAYATILAKA, 2009a; WOOD et al., 2008) is a crucial tool for comprehending the intermolecular contacts among atoms and the arrangement within crystal packing. In a HS the normalized contact distance (d_{norm}), which normalizes the closest external atom to the surface (d_e) and closest internal atom of the surface (d_i) with the van der Waals radius, serves to identify the most significant contacts within the molecule (MCKINNON; SPACKMAN; MITCHELL, 2004; SPACKMAN et al., 2021b). See Equation 1:

$$\mathbf{d}_{norm} = (\mathbf{d}_i - \mathbf{r}_i^{\text{vdW}}) / \mathbf{r}_i^{\text{vdW}} + (\mathbf{d}_e - \mathbf{r}_e^{\text{vdW}}) / \mathbf{r}_e^{\text{vdW}}$$
(1)

 r_i^{vdw} and r_e^{vdw} are the van der Waals radii. The *shape index* can indicate hydrophobic interactions(MARTIN et al., 2015). It is determined by the flatness or curvature of the HS, serving as a function thereof. See Equation 2:

$$S = \left(\frac{2}{\pi}\right) \arctan\left[\frac{(\kappa_1 + \kappa_2)}{(\kappa_1 - \kappa_2)}\right],\tag{2}$$

 k_1 and k_2 are the principal curvatures of the surface. Additionally, the 2D fingerprint plots offer both the frequency and quantitative details regarding the computed intermolecular contacts. In this context, we utilized Crystal Explorer 21.5(SPACKMAN et al., 2021c) software to produce the HS d_{norm} and *shape index* surfaces, as well as to calculate the 2D fingerprint plots.

2.2. Theoretical calculation

The Gaussian 09(FRISCH et al., 2013) software was employed to carry out the electronic structure calculations for DDEA and DDEA.H2O drugs. The geometry optimizations were performed at M06-2X/6-311++G(d,p) level of theory (CHAI; HEAD-GORDON, 2008; HOHENSTEIN; CHILL; SHERRILL, 2008; WIBERG, 2004; ZHAO; TRUHLAR, 2008). Vibrational frequency calculations were applied to confirm that the optimized structure corresponds to the minimum energy state. The electronic properties such as the highest occupied molecular orbital (HOMO), the lowest unoccupied molecular orbital (LUMO)(WEINHOLD; LANDIS, 2005), and MEP(GUHA; MAJUMDAR; BHATTACHARJEE, 1992; NÁRAY - SZABÓ, 1979) were also obtained. The investigation of the aqueous solvation effect was carried out using both explicit (AGOA) and implicit (SCRF-CPCM) approaches. In terms of the explicit (discrete) model, the AGOA methodology was applied as described elsewhere(CARVALHO; DA SILVA; HERNANDES, 2005; HERNANDES; DA SILVA; LONGO, 2002; HERNANDES; LONGO, 2005; OLIVEIRA et al., 2007). AGOA methodology uses the CUBE file obtained through MEP calculated within the 3D-grid surrounding the compound. Thus, starting from the CUBE points, and using the TIP4P geometry for water(JORGENSEN; MADURA, 1985), the interaction between the solute and water molecules occurs according to Equation 3:

$$E(\text{solute} \cdots H_2 0) = -\vec{\mu} \cdot \nabla \vec{U} \tag{3}$$

where $\vec{\mu}$ is the dipolar moment of the water; $\nabla \vec{U}$ is the electrostatic potential gradient field in the 3D grid points described by finite differences. The AGOA software was used to find the 20 points in the grid corresponding to the 10 largest negative and 10 positive values of the MEP.

The overall solvent effect procedure for diclofenac diethylamine, i.e., the optimized diclofenac diethylammonium drug, can be understood by the following steps (Flowchart 1): (1) Calculate the electrostatic potential from total SCF density with the G09 program for optimized diclofenac diethylamine; (2) Read the electrostatic potential from total SCF density (CUBE file); (3) Generate input files from the AGOA procedure and calculate the interaction energy for the supermolecule (diclofenac + diethylamine) in the presence of each water molecule, using Counterpoise Correction (Boys and Bernardi BSSE(BOYS; BERNARDI, 1970)); and (4) Calculate the interaction energy for the supermolecule (diclofenac + diethylamine) in the presence of each water molecule, considering SCRF-CPCM(BARONE; COSSI, 1998; COSSI et al., 2003) as the implicit solvent model for water.

The system in the counterpoise correction was divided into two fragments, considering the proximity of each water molecule added with the AGOA procedure. Thus, there are two possible systems, which comprehend (a) diclofenac-nearest water (fragment 1) + diethylamine (fragment 2) or (b) diclofenac (fragment 1) + diethylamine-nearest water (fragment 2), as shown in Flowchart S1. The system in the SCRF-CPCM was divided into three inputs, forming two different systems, which comprehend (a) diclofenac + diethylamine + water (input 1), diclofenac-nearest water (input 2) and diethylamine (input 3) or (b) diclofenac + diethylamine + water (input 1), diclofenac (input 2) and diethylamine-nearest water (input 3). The energy values calculated for the SCRF-CPCM implicit solvent model for water were obtained through the energy difference between input 1, and inputs 2 and 3.



Flowchart 1. Solvent effect procedure for optimized diclofenac diethylamine drug.

3. Results and discussion

3.1. Polymorphic description

Table 1 shows the crystallographic and refinement data for the compounds DDEA and DDEA.H₂O, which crystallize in the $P2_1/n$ and $P2_1/a$ monoclinic space groups, respectively. The asymmetric unit of DDEA and DDEA.H₂O contains one cation, one anion, and one coordinated water molecule, as shown in Figures 1a and 1b, respectively.

	DDEA	DDEA.H ₂ O
Chemical formula	$C_{18}H_{22}Cl_2N_2O_2$	$C_{18}H_{24}Cl_2N_2O_3$
Formula weight	369.28	387.29
Crystal system, space group	Monoclinic, $P2_1/n$	Monoclinic, $P2_1/a$
Temperature (K)	293(2)	293(2)
a, b, c (Å)	14.502 (3) 7.985 (2) 16.724 (3)	11.7490(10) 12.2960(10) 14.5910(10)
α, β, γ (°)	90.00 98.830(10) 90.00	90.00 107.544(3) 90.00
V (Å ³)	1913.5(7)	2009.9(3)
Z	4	4
ρ_{calc} (g/cm ³)	1.282	1.280
$\mu (mm^{-1})$	0.351	0.341
F(000)	776.0	816.0
Radiation type	MoKa ($\lambda = 0.71073$)	MoKa ($\lambda = 0.71073$)
Goodness-of-fit on F ²	1.027	1.055
Final R indexes $[I \ge 2\sigma(I)]$	0.0421	0.0480
Final R indexes [all data]	0.0717	0.0970

Table 1. Crystallographic and refinement data of DDEA and DDEA.H₂O drugs.

The root mean square deviation (RMSD) value, observed by overlaying the anionic structures of DDEA and DDEA.H₂O, was 0.7359 Å as shown in Figure 1c. These alterations are mainly due to the increase in the torsional angle C₂–C₁₃–C₁₄–O₁, which underwent a relative decrease of 0.30%, and C₂–C₁₃–C₁₄–O₂, which underwent a relative increase of 0.28%. Another observed change in the anion conformation was observed in N₁–C₁–C₂–C₁₃, which underwent a relative increase of 7.99%. Finally, a relative decrease of 0.82% in the N₁–C₇–C₁₂–Cl₁ torsional angle was observed. Due to these conformational changes, the planes formed between the A and B rings are 7.98% larger in DDEA.H2O compared to DDEA, as shown in Table S1.



Figure 3. ORTEP representation of the asymmetric unit, showing hydrogen atoms, for DDEA (a), and DDEA. H_2O (b), with the atom numbering scheme. Ellipsoids are drawn at the 50% probability level. (c) Structure overlay for DDEA and DDEA. H_2O .

The scatter plots obtained for the bond lengths and bond angles of DDEA and DDEA. H_2O are shown in Figure 2. Comparison of these data resulted in values of a mean absolute deviation percentage (MADP) of 0.442% for the bond length and 0.795% for the bond angle. The MADP formula is calculated by Equation 4:

$$MADP = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^{n} \left| \frac{\chi_i - \chi_j}{\chi_j} \right|, \tag{4}$$

where χ_i is the DDEA.H₂O geometric parameters, χ_i is the DDEA geometric parameters of DDEA and n is the number of bond lengths or bond angles analyzed. The Pearson correlation coefficients were $R^2 = 0.9980$ and $R^2 = 0.8749$, respectively. In addition, Student's t-tests of paired samples for means showed that the observed differences in drug structures in both crystalline systems, bond length, and angle, are insignificant (p-values: 0.081 and 0.306, respectively). The data showed that there was a 1.6% increase in the C₁₄–O₂ bond and a 0.8% decrease in the C₁₄–O₁ bond. In both systems, the presence of the intramolecular interaction C_{14} – O_1 ···H– N_1 is observed. The lengths of these bonds are not disturbed and remain similar in each system. However, in DDEA, the oxygen atoms are connected to diethylammonium cations (two in O_1 and one in O_2), while in DDEA.H₂O, they are directly connected to H₂O molecules. Furthermore, O₂ is bound to a diethylammonium cation in DDEA.H₂O, causing the observed distortion. Another important deviation occurred with the 1.4% increase in the C_9-C_{10} bond. This increase may be due to the presence of a second interacting molecular unit that causes the repulsion of π electrons in this region. Later, we will discuss the intermolecular interactions in each crystal. Regarding the bond angles, it was observed that the presence of H₂O molecules caused increases of 5.1% in C2-C13-C14 and 1.9% in C13-C14-O1, and a decrease of 2.2% in C_{13} – C_{14} – O_2 , compared to the anhydrous system.



Figure 4. Comparison graphs of the geometric parameters (a) bond length and (b) angle, obtained by X-ray diffraction, for the DDEA and DDEA.H₂O.

The supramolecular arrangement in packing was analyzed by HS d_{norm} . The intermolecular interactions analyzed are shown in Figure 3, with red spots indicating strong interactions. The Figure 3a corresponds to a chain of rings N₂–H_{2B}···O₁, C₁₉–H_{19A}···Cl₁, N₂–H_{2A}···O₂ and C₁₀–H₁₀···O₂ intermolecular interactions presents in DDEA. The C₁₇–H_{17A}···O₁ intermolecular interaction is evidenced by red spots (Figure 3b). The HS *shape index* shows the presence of an interaction for DDEA involving the π -system (C₂₀–H_{20B}··· π), the distance between the centroid (Cg2) and the hydrogen interaction (H₂₀) is measured at 2.977 Å (Figure 3c). For DDEA.H₂O, Figures 3d and 3e correspond to water molecule O_{3W}–H_{3WA}···O₂ and O_{3W}–H_{3WB}···O₁ intermolecular interactions. The red spots show in Figure 3f and 3g indicate the N₂–H_{2B}···O_{3W} and N₂–H_{2A}···O₁ interactions. While the Figure 3h corresponds to the C₅–H₅···Cl₂ interactions. Furthermore, the HS *shape index* also indicates the π ··· π intermolecular interaction for DDEA.H₂O (Figure 3i).









(b)



(d)



Figure 5. The HS showing interactions: N_2-H_{2A} ... O_2 ; N_2-H_{2B} ... O_1 ; $C_{10}-H_{10}$... O_2 ; $C_{19}-H_{19A}$... Cl_1 (**a**), $C_{17}-H_{17A}$... O_1 (**b**), $C_{20}-H_{20B}$... π (**c**) found in the crystal packing for DDEA. For DDEA.H₂O, the HS showing interactions: $O_{3W}-H_{3WA}$... O_2 (**d**), $O_{3W}-H_{13WB}$... O_1 (**e**), N_2-H_{2A} ... O_1 (**f**), N_2-H_{2B} ... O_{3W} (**g**), C_5-H_5 ... Cl_2 (**h**), π ... π stacking (**i**) and (**j**) types of the intermolecular interactions found in the HS for DDEA and DDEA.H₂O.

The 2D fingerprint plots of DDEA and DDEA.H₂O are shown in Figure 4. The 2D fingerprint plots, representing d_i versus d_e , provide a quantification of the various types of intermolecular contacts within the solid-state supramolecular arrangement(SPACKMAN; JAYATILAKA, 2009b). These H…H contacts constitute 41.3% and 53.7% of the HS for DDEA and DDEA.H₂O, respectively, owing to their organic nature(MICHELINI et al., 2020; MOREIRA et al., 2019; PAULA et al., 2019; WF et al., 2021). The C…H/H…C contacts account for the second-largest contributions, comprising 21.2% and 13.1% of the HS for DDEA and DDEA.H₂O, respectively. The red spots represent the O…H/H…O interactions with 16.2% and 14.0% of the HS of DDEA and DDEA.H₂O, respectively; these are depicted as spikes at the bottom of the 2D fingerprint plot. Additionally, contacts involving





Figure 6. Fingerprint representations in 2D of (a) DDEA and (b) DDEA. H_2O . For both cases, reciprocal contacts were included.

3.2. Molecular modeling analysis

The geometric parameters for optimized diclofenac were performed by Rodrigues and coworkers and compared with the solid-state values (C. C. RODRIGUES et al., 2024). The Pearson correlation coefficients between the theoretical and experimental values were $R_{length}^2 = 0.9880$ and $R_{angle}^2 = 0.8972$, respectively. The small variations in these geometric parameters can be attributed to the strong N–H···O intermolecular interactions observed in the crystalline system, which form hydrogen bonds with the diethylammonium cation at 1.786 Å (O₁) and 1.850 Å (O₂).

In this work, the DFT calculations for DDEA and DDEA.H₂O consider the molecules in a gas phase, i.e., an environment free of interactions. These theoretical parameters complement experimental solid-state data, providing a more comprehensive view of the relationship between the drugs' chemical structures and their properties (SAURABH et al., 2020). The behavior of the molecule in the different phases and conditions provides insights for future investigations and applications in pharmaceutical formulations (BARONE; IMPROTA; REGA, 2008).

The frontier molecular orbital (FMO) extracted from NBO analysis for the DDEA drug was conducted at the M06-2X/6-311++G(d,p) level of theory (Figure 5). The HOMO is situated within the phenyl π bonding area, a distinctive feature indicative of the nucleophilic region. It manifests as a π bonding orbital, exhibiting energy values of -746.01 and -758.27 kJ/mol for DDEA and DDEA.H₂O, respectively. The LUMO orbital is a π antibonding orbital localized in the

dichlorophenyl π region with an energy value of 68.00 and 49.04 kJ/mol for DDEA and DDEA.H₂O, respectively. The energy gap values of 814.01 and 807.31 kJ/mol for DDEA and DDEA.H₂O, respectively, show that the diclofenac diethylammonium drug is chemically stable.



Figure 7. NBO orbital represented at M06-2X/6-311++G(d,p) level of theory with the isovalue of 0.05 atomic units. HOMO π -bonding orbital for DDEA (a) and DDEA.H₂O (c). LUMO π -antibonding orbital for DDEA (b) and DDEA.H₂O (d).

The MEP serves as an important physicochemical tool, offering insights into molecular interactions and aiding in predicting reactive sites targeted in chemical reactions. The electrostatic potential at a given point $\rho(\mathbf{r})$ near a molecule can be computed using Equation 5:

$$V(\mathbf{r}) = \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{|\mathbf{r} - \mathbf{R}_{\alpha}|} - \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}'$$
(5)

where V(**r**) is the potential energy by a positive unit charge at point **r**; Z_{α} is the nuclear charge of the atom α located at position **R**_{α}, and ρ (**r**') is the electron density. Thus, it has been calculated using the bond increment technique of Náray-Szabó(NÁRAY - SZABÓ, 1979).

The MEP map representation of the DDEA drug illustrates that the most negative region (depicted in red) is situated on the oxygen atoms of the carbonyl group, with the same value of - 133.90 and -126.02 kJ/mol for DDEA and DDEA.H₂O, respectively (Figure 6). Additionally, positive region (depicted in blue) surrounds the diethylamine hydrogen atom, with values of 102.39 and 105.02 kJ/mol for DDEA and DDEA.H₂O, respectively. In conclusion, owing to the interactions within the diethylamine group observed in the crystal structures, we can infer the likelihood of a nucleophilic attack occurring within this region.



Figure 8. The molecular electrostatic potential surface was mapped for diclofenac diethylammonium DDEA (a) and DDEA.H₂O (b), showing the red-colored and the blue-colored regions, which are the regions rich in electrons and electron depleted, respectively. The density isovalue of 4.0×10^{-4} electrons/bohr³ was used to generate the molecular electrostatic potential surfaces.

The solvent effect on diclofenac diethylamine using both implicit SCRF-CPCM polarizable continuum model and explicit AGOA (with BSSE counterpoise correction) methods, considering 10 water molecules at the maximum (#01 to #10) and 10 water molecules at the minimum (#11 to #20) MEP regions of the supermolecule (diclofenac + diethylamine), are in good agreement each other, as can be seen in Figure 7. The interaction energies obtained from the BSSE counterpoise correction and the SCRF-CPCM implicit solvent model for water are depicted in Table S2.



Figure 9. Solvent effect comparison for implicit (SCRF-CPCM) and explicit (AGOA/BSSE) methods, considering 10 water molecules at the maximum (#01 to #10) and 10 water molecules at the minimum (#11 to #20) MEP regions of the supermolecule (diclofenac + diethylamine). Calculations were performed at M06-2X and basis set 6-311++G(d,p) (CHAI; HEAD-GORDON, 2008).

We observed that molecule H_2O (#08) promotes the greatest stability for the supermolecule (diclofenac + diethylamine), with the lowest value for interaction energy, and it is localized on the polar regions (involving carboxyl group and diethylamine), corroborating the experimental DDEA. H_2O crystalline solid, as can be seen in Figure 8a. Molecule H_2O (#20) induces the lowest stability and is localized on the hydrophobic space, as can be seen in Figure 8b.





Figure 10. Explicit water molecule obtained from AGOA: (a) 10 from maximum (#01 to #10) and (b) 10 from minimum (#11 to #20) MEP points. Calculations were performed at M06-2X and basis set 6-311++G(d,p).

5. CONCLUSIONS

In this study, two polymorphs (DDEA and DDEA.H₂O) of the diclofenac diethylammonium drug were analyzed using the supramolecular arrangement, with an emphasis on the relationship of structural-physicochemical properties in the solid state (both crystallized in the monoclinic group $P2_{1/n}$ and $P2_{1/a}$, respectively). The angles between aromatics rings A and B are 66.92° and 72.29° for DDEA and DDEA.H₂O, respectively, with differences due to the influence of the water on the conformation of DDEA.H₂O. The supramolecular arrangements correspond to a chain of rings for DDEA. However, the monohydrate molecule contains classic O–H···O interactions, forming a ring coordinated by two water molecules. The fingerprint graphs indicated a higher percentage of interactions of type C–H··· π in the anhydrous structure of DDEA, comprising 21.2% of the interactions for the monohydrated structure. The solvent effects using explicit and implicit approaches are in good agreement. Theoretical energy calculations for HOMO and LUMO orbitals have gap values of 814.01 and 807.31 kJ/mol for DDEA and DDEA.H₂O, respectively.

CRediT authorship contribution statement

Lóide O. Sallum: Conceptualization, Writing – original draft. Waléria N. Siqueira: Investigation, Data curation, Software, Writing – review & editing. Antônio S. N. Aguiar: Writing – original draft,

Investigation, Data curation. Vitor S. Duarte: Formal analysis, Writing – review & editing. Samuel B. S. Sales: Visualization, Writing – review & editing. Géssika Lobo: Visualization. Marcelo Z. Hernandes: Conceptualization, Formal analysis, Writing – review & editing. Ademir J. Camargo: Formal analysis, Writing – review & editing.: Hamilton B. Napolitano: Project administration, Conceptualization, Supervision, Investigation, Writing – review & editing, Resources.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa de Goiás (FAPEG), Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular (FUNADESP), and the High Performance Computing Center of the Universidade Estadual de Goiás.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados são provenientes da análise de dois polimorfos do fármaco diclofenaco dietilamônio (DDEA e DDEA.H₂O) por meio do arranjo supramolecular, revelando que ambos os polimorfos cristalizam no grupo monoclínico P2₁/n e P2₁/a, respectivamente, com diferenças importantes nos ângulos entre os anéis aromáticos A e B, devido à influência da água na conformação de DDEA.H₂O. Os gráficos gerados pela análise da Superfície de Hirshfield mostraram uma maior porcentagem de interações do tipo C–H···· π na estrutura anidra de DDEA, representando 21,2% das interações. Enquanto as interações do tipo O····H/H····O indicaram 16,2% das interações para a estrutura monohidratada.

Os efeitos do solvente, foram analisados por meio do software AGOA atraves de aproximações explícitas e implícitas e mostraram-se robustos e importantes neste estudo. Os cálculos teóricos de energia para os orbitais HOMO e LUMO apresentaram valores de gap de 814,01 kJ/mol e 807,31 kJ/mol para DDEA e DDEA.H₂O, respectivamente. De acordo com a análise do Potencial Eletrostático Molecular (MEP) verificou-se que as regiões próximas aos átomos de oxigênio e hidrogênio amoniacal são mais suscetíveis a ataques eletrofílicos e nucleofílicos, respectivamente.

Os resultados obtidos demonstraram que as diferenças nas interações e no arranjo supramolecular das moléculas, podem causar particularidades nas propriedades físico-químicas, como absorção, polaridade, biodisponibilidade, reatividade, estabilidade, degradação. As diferenças entre os dois polimorfos em termos de biodisponibilidade, estabilidade e dissolução podem influenciar significativamente a eficácia do fármaco.

A escolha entre uma das formas deve considerar as condições de armazenamento, a forma de administração e o perfil desejado de liberação do medicamento. Fatores como a umidade do ambiente, a necessidade de uma liberação mais rápida ou de liberação prolongada e a estabilidade ao longo do tempo são importantes para determinar qual forma é mais adequada para uso em diferentes formulações farmacêuticas.

Estudos complementares podem expandir esta análise e explorar outras condições experimentais com outras variações de polimorfos, resultando em informações ainda mais abrangentes sobre a influência das interações supramoleculares em fármacos sólidos.

7. MATERIAL SUPLEMENTAR



Flowchart S1. Procedure for calculating the interaction energies for the optimized diclofenac diethylamine.

Table S1. Geometric parameters of DDEA and DDEA.H₂O, obtained from the crystallographic data.

Doud Lou oth	DDEA	DDEA.H ₂ O	ΔΒ	Bond	DDEA	DDEA.H ₂ O	ΔΑ
Bond Length	(Å)	(Å)	(%)	Angle	(°)	(°)	(%)
C1-C2	1.399	1.399	0.000	C1-C2-C3	118.370	118.110	-0.220
C2-C3	1.389	1.402	0.936	C2-C3-C4	121.690	121.360	-0.271
C3-C4	1.374	1.381	0.509	C3-C4-C5	119.430	119.930	0.419
C4-C5	1.370	1.364	-0.438	C4-C5-C6	120.580	120.400	-0.149
C5-C6	1.384	1.388	0.289	C5-C6-C1	120.120	120.240	0.100
C6-C1	1.387	1.395	0.577	C6-C1-C2	119.810	119.890	0.067
C2-C13	1.509	1.505	-0.265	C1-C2-C13	121.590	120.960	-0.518
C13-C14	1.528	1.531	0.196	C3-C2-C13	120.000	120.800	0.667
C14-O1	1.252	1.242	-0.799	C2-C13-C14	109.720	115.360	5.140
C14-O2	1.241	1.261	1.612	C13-C14-O1	116.090	118.300	1.904
C1-N1	1.415	1.406	-0.636	C13-C14-O2	119.010	116.360	-2.227
N1-C7	1.392	1.395	0.216	O1-C14-O2	124.850	125.330	0.384
C7-C8	1.392	1.395	0.216	C2-C1-N1	118.020	118.300	0.237
C8-C9	1.386	1.383	-0.216	C6-C1-N1	122.160	121.810	-0.287
C9-C10	1.357	1.376	1.400	C1-N1-C7	124.520	123.260	-1.012
C10-C11	1.368	1.367	-0.073	N1-C7-C8	121.360	122.740	1.137
C11-C12	1.384	1.385	0.072	C7-C8-C9	122.250	122.290	0.033
C12-C7	1.397	1.400	0.215	C8-C9-C10	120.390	119.610	-0.648
C8-Cl1	1.741	1.743	0.115	C9-C10-C11	119.460	120.360	0.753
C12-Cl2	1.733	1.732	-0.058	C10-C11-C12	120.380	119.550	-0.689
MAPD	-	-	0.442	C11-C12-C7	121.920	122.320	0.328
R ²	-	-	0.9980	C12-C7-C8	115.530	115.820	0.251
				C12-C7-N1	122.920	121.370	-1.261
				C7-C8-Cl1	119.040	118.000	-0.874
				C9-C8-Cl1	118.680	119.710	0.868
				C7-C12-Cl2	120.000	119.210	-0.658
				C11-C12-Cl2	118.000	118.420	0.356

MAPD

 \mathbb{R}^2

-

-

0.795

0.8749

-

-

Water Molecule	RSSE	SCRF-CPCM	SCRF-CPCM	SCRF-CPCM	*SCRF-
	(keel/mel)	Input 1	Input 2	Input 3	CPCM
Wolecule (Kcal/III0I)		(atomic units)	(atomic units)	(atomic units)	(kcal/mol)
#01	-19.40	-1955.843210	-1665.647976	-290.1670960	-17.66
#02	-18.67	-1955.849462	-1665.647976	-290.1737470	-17.41
#03	-19.22	-1955.843940	-1665.647976	-290.1676961	-17.74
#04	-17.57	-1955.839111	-1742.068784	-213.7438878	-16.59
#05	-17.50	-1955.843778	-1742.073392	-213.7438878	-16.63
#06	-17.53	-1955.847392	-1742.077070	-213.7438878	-16.59
#07	-18.82	-1955.844911	-1665.647976	-290.1694148	-17.27
#08	-20.58	-1955.848749	-1665.647976	-290.1720312	-18.03
#09	-17.92	-1955.836003	-1665.647976	-290.1613599	-16.73
#10	-17.60	-1955.845639	-1742.075517	-213.7438878	-16.46
#11	-18.10	-1955.826068	-1742.055500	-213.7438771	-16.75
#12	-18.64	-1955.847738	-1742.077170	-213.7438771	-16.75
#13	-18.60	-1955.844892	-1742.074652	-213.7438771	-16.54
#14	-18.10	-1955.838818	-1742.068175	-213.7438771	-16.80
#15	-18.34	-1955.842620	-1742.071966	-213.7438771	-16.80
#16	-20.08	-1955.847208	-1665.648163	-290.1713101	-17.40
#17	-17.99	-1955.841222	-1742.070886	-213.7438771	-16.60
#18	-17.95	-1955.835214	-1742.064588	-213.7438771	-16.78
#19	-19.54	-1955.853099	-1742.081402	-213.7438771	-17.46
#20	-17.23	-1955.841460	-1742.071369	-213.7438771	-16.45

Table S2. Interaction energies for diclofenac diethylamine, considering the solvent effect with water molecules added using the AGOA procedure.

*SCRF-CPCM = (Input 1) – (Inputs 2 + 3).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARONE, V.; COSSI, M. Quantum calculation of molecular energies and energy gradients in solution by a conductor solvent model. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 11, 1998.

BARONE, V.; IMPROTA, R.; REGA, N. Quantum mechanical computations and spectroscopy: From small rigid molecules in the gas phase to large flexible molecules in solution. Accounts of Chemical Research, v. 41, n. 5, p. 605–616, 2008.

BARTOLOMEI, M. et al. Hydrate modifications of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium: Solid-state characterisation of a trihydrate form. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 3, p. 443–449, nov. 2007.

B.CHUASUWAN et al. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Diclofenac Sodium and Diclofenac Potassium. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 4, p. 1206–1219, abr. 2009.

BHATIA, A. et al. Polymorphism and its Implications in Pharmaceutical Product Development. Em: **Dosage Form Design Parameters**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 31–65.

BOYS, S. F.; BERNARDI, F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. **Molecular Physics**, v. 19, n. 4, p. 553–566, 1970.

C. C. RODRIGUES, A. et al. Exploring the aqueous solubility and intermolecular interactions of diclofenac Diethylammonium: A molecular modeling study in solid state and solvation processes. **Journal of Molecular Liquids**, v. 401, n. March, 2024.

CARVALHO, M. A.; DA SILVA, J. B. P.; HERNANDES, M. Z. Principal component analysis of the effects of wavefunction modification on the electrostatic potential of indole. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, n. 4, 2005.

CASTELLARI, C.; COMELLI, F.; OTTANI, S. Anti-inflammatory drugs. IX.1 Hydrated diethylammonium [2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl]acetate (HDEA·D·H2O). Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications, v. 57, n. 4, p. 437–438, 15 abr. 2001.

CASTELLARI, C.; SABATINO, P. Anti-inflammatory drugs: 1-(2-hydroxyethyl)pyrrolidinium salt of diclofenac. Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications, v. 50, n. 11, p. 1723–1726, 15 nov. 1994.

CASTELLARI, C.; SABATINO, P. Anti-Inflammatory Drugs. III. Salts of Diclofenac with N-(2-Hydroxyethyl)piperidine, N-(2-Hydroxyethyl)morpholine and N-(2-Hydroxyethyl)piperazine. Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications, v. 52, n. 7, p. 1708–1712, 15 jul. 1996.

CENSI, R.; DI MARTINO, P. Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 18759–18776, 15 out. 2015.

CHAI, J. DA; HEAD-GORDON, M. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 10, n. 44, p. 6615–6620, 2008.

CLEGG, W. X-ray crystallography. Second ed. [s.l.] Oxford University Press, 2015.

COSSI, M. et al. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. **Journal of Computational Chemistry**, v. 24, n. 6, 2003.

CULLITY, B. D. Elements of DIFFRACTION. 2nd. ed. [s.l: s.n.].

DAVIS, M. P.; KORTER, T. M. Low-Frequency Vibrational Spectroscopy and Quantum Mechanical Simulations of the Crystalline Polymorphs of the Antiviral Drug Ribavirin. **Molecular Pharmaceutics**, v. 19, n. 9, p. 3385–3393, 2022.

ELDER, D. P.; PATTERSON, J. E.; HOLM, R. The solid-state continuum: a perspective on the interrelationships between different solid-state forms in drug substance and drug product. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 6, p. 757–772, 15 maio 2015.

FRISCH, M. J. et al. Gaussian 09, Revision D.01. Gaussian Inc., v. 34, p. 1–20, 2013.

FUSARO, C. **Estudo da fonoforese de ciclofenaco dietilamonio em voluntarios sadios**. Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, 31 jan. 2006.

GAN, T. J. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. **Current Medical Research and Opinion**, v. 26, n. 7, p. 1715–1731, 1 jul. 2010.

GIACOVAZZO, CARMELO. **Fundamentals of crystallography**. Oxford: Oxford University Press, 2012.

GLUSKER, J. P.; TRUEBLOOD, K. N. Crystal Structure Analysis: A Primer. [s.l: s.n.].

GONDOLPH-ZINK, B.; GRONWALD, U. Wirkstoffkonzentrationen in artikulären und periartikulären Geweben des Kniegelenkes nach kutaner Anwendung von Diclofenac-Diethylammonium Emulgel. **Aktuelle Rheumatologie**, v. 21, n. 06, p. 298–304, 18 nov. 1996.

GOSWAMI, P. K.; KUMAR, V.; RAMANAN, A. Multicomponent solids of diclofenac with pyridine based coformers. **Journal of Molecular Structure**, v. 1210, p. 128066, 2020.

GROOM, C. R. et al. The Cambridge structural database. Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials, 2016.

GUHA, S.; MAJUMDAR, D.; BHATTACHARJEE, A. K. Molecular electrostatic potential: a tool for the prediction of the pharmacophoric pattern of drug molecules. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 256, n. C, p. 61–74, 1992.

HERNANDES, M. Z.; DA SILVA, J. B. P.; LONGO, R. L. AGOA: A hydration procedure and its application to the 1-phenyl- β -carboline molecule. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 1, 2002.

HERNANDES, M. Z.; LONGO, R. L. AIPAR: Ab initio parametrization of intermolecular potentials for computer simulations. **Journal of Molecular Modeling**, v. 11, n. 1, 2005.

HILFIKER, R. (ED.). Polymorphism. [s.l.] Wiley, 2006.

HOHENSTEIN, E. G.; CHILL, S. T.; SHERRILL, C. D. Assessment of the performance of the M05#2X and M06#2X exchange correlation functionals for noncovalent interactions in biomolecules. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 4, n. 12, p. 1996–2000, 2008.

HUANG, L. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 56, n. 3, p. 321–334, 23 fev. 2004.

JORGENSEN, W. L.; MADURA, J. D. Temperature and size dependence for monte carlo simulations of TIP4P water. **Molecular Physics**, v. 56, n. 6, 1985.

KHALIL, E.; NAJJAR, S.; SALLAM, A. Aqueous Solubility of Diclofenac Diethylamine in the Presence of Pharmaceutical Additives: A Comparative Study with Diclofenac Sodium. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 375–381, 4 jan. 2000.

LADD, M.; PALMER, R. Structure determination by X-ray crystallography: Analysis by X-rays and neutrons. **Structure Determination by X-ray Crystallography: Analysis by X-rays and Neutrons**, p. 1–756, 2013.

LEE, A. Y.; ERDEMIR, D.; MYERSON, A. S. Crystal Polymorphism in Chemical Process Development. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 2, n. 1, p. 259–280, 15 jul. 2011.

LEVINA, E. O. et al. Hydration of the Carboxylate Group in Anti-Inflammatory Drugs: ATR-IR and Computational Studies of Aqueous Solution of Sodium Diclofenac. **ACS Omega**, v. 3, n. 1, p. 302–313, 31 jan. 2018.

LLINÀS, A. et al. Diclofenac Solubility: Independent Determination of the Intrinsic Solubility of Three Crystal Forms. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. 5, p. 979–983, 1 mar. 2007.

MACRAE, C. F. et al. Mercury: Visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, n. 3, p. 453–457, 2006.

MANOSROI, A.; JANTRAWUT, P.; MANOSROI, J. Anti-inflammatory activity of gel containing novel elastic niosomes entrapped with diclofenac diethylammonium. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 360, n. 1–2, p. 156–163, ago. 2008.

MARTIN, A. D. et al. Hirshfeld Surface Investigation of Structure-Directing Interactions within Dipicolinic Acid Derivatives. **Crystal Growth and Design**, v. 15, n. 4, p. 1697–1706, abr. 2015.

MCKINNON, J. J.; FABBIANI, F. P. A.; SPACKMAN, M. A. Comparison of Polymorphic Molecular Crystal Structures through Hirshfeld Surface Analysis. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 4, p. 755–769, abr. 2007.

MCKINNON, J. J.; SPACKMAN, M. A.; MITCHELL, A. S. Novel tools for visualizing and exploring intermolecular interactions in molecular crystals. Acta Crystallographica Section B: Structural Science, 2004.

MICHELINI, L. J. et al. Synthesis, Characterization and Conformational Analysis of Two Novel 4(1. v. 31, n. 1, p. 66–78, 2020.

MORALES-TOYO, M. et al. Polymorphs of 2-[2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl]acetic acid (Diclofenac): Differences from crystallography, Hirshfeld surface, QTAIM and NCIPlots. **Chemical Physics**, v. 544, n. December 2020, 2021.

MOREIRA, C. A. et al. A comprehensive study on crystal structure of a novel sulfonamidedihydroquinolinone through experimental and theoretical approaches. **Journal of Molecular Modeling 2019 25:7**, v. 25, n. 7, p. 1–10, jun. 2019.

MORRISON, H. et al. Mapping Polymorphic Behavior of Process Intermediates, an Often-Overlooked Exercise. Organic Process Research and Development, 2022.

MÜLLER, P. et al. Crystal Structure Refinement: A Crystallographer's Guide to SHELXL. [s.l.] Oxford University Press, 2010. v. 9780198570

NÁRAY-SZABÓ, G. Electrostatic isopotential maps for large biomolecules. **International Journal** of Quantum Chemistry, v. 16, n. 2, p. 265–272, 1979.

O'CONNOR, K. M.; CORRIGAN, O. I. Comparison of the physicochemical properties of the N-(2-hydroxyethyl) pyrrolidine, diethylamine and sodium salt forms of diclofenac. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 222, n. 2, p. 281–293, jul. 2001a.

O'CONNOR, K. M.; CORRIGAN, O. I. Preparation and characterisation of a range of diclofenac salts. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, n. 1–2, p. 163–179, set. 2001b.

OLIVEIRA, B. G. et al. A theoretical study of the solvent effects in ethylene oxide: Hydrofluoric acid complex using continuum and new discrete models. Journal of Molecular Structure: **THEOCHEM**, v. 802, n. 1–3, 2007.

PALOMO, M. E.; BALLESTEROS, M. P.; FRUTOS, P. Analysis of diclofenac sodium and derivatives. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 21, n. 1, p. 83–94, out. 1999. PARSAEE, S.; SARBOLOUKI, M. N.; PARNIANPOUR, M. In-vitro release of diclofenac diethylammonium from lipid-based formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 241, n. 1, p. 185–190, jul. 2002.

PAULA, R. L. G. DE et al. A Comprehensive Topological Analysis on a New Bromine-Chalcone with Potential Nonlinear Optical Properties. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 123, n. 40, p. 8632–8643, out. 2019.

PUROHIT, R.; VENUGOPALAN, P. Polymorphism: An overview. Resonance, v. 14, n. 9, 2009.

RODRÍGUEZ-SPONG, B. General principles of pharmaceutical solid polymorphism A supramolecular perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 241–274, 23 fev. 2004. SAIFEE, M. et al. Drug polymorphism: a review. **International Journal of Health Research**, v. 2, n. 4, 10 jun. 2010.

SALLMANN, A. R. The history of diclofenac. **The American Journal of Medicine**, v. 80, n. 4, p. 29–33, abr. 1986.

SAURABH, S. et al. Molecular Dynamics Simulations in Drug Discovery and Drug Delivery. **Engineering Materials**, p. 275–301, 2020.

SHELDRICK, G. **SHELXS: Program for the solution of crystal structures**. GermanyUniversity of Gottingen, , 1990.

SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. Acta crystallographica. Section C, Structural chemistry, v. 71, n. Pt 1, p. 3–8, 2015.

S.K. WOLFF, D.J. GRIMWOOD, J.J. MCKINNON, M.J. TURNER, D. JAYATILAKA, M. A. S. CrystalExplorer (Version 3.1). **University of Western Australia**, 2012.

SPACKMAN, M. A.; JAYATILAKA, D. Hirshfeld surface analysis. CrystEngComm, v. 11, n. 1, p. 19–32, 2009a.

SPACKMAN, M. A.; JAYATILAKA, D. Hirshfeld surface analysis. **CrystEngComm**, v. 11, n. 1, p. 19–32, 7 jan. 2009b.

SPACKMAN, P. R. et al. CrystalExplorer: A program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. **Journal of Applied Crystallography**, v. 54, p. 1006–1011, 2021a.

SPACKMAN, P. R. et al. CrystalExplorer: A program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. **Journal of Applied Crystallography**, v. 54, p. 1006–1011, 2021b.

SPACKMAN, P. R. et al. CrystalExplorer: A program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. **Journal of Applied Crystallography**, v. 54, p. 1006–1011, 2021c.

SPEK, A. L. Single-crystal structure validation with the program PLATON. Journal of Applied Crystallography, v. 36, n. 1, p. 7–13, fev. 2003.

TURNER, M. J. et al. CrystalExplorer17 (2017). University of Western Australia, 2017.

WEINHOLD, F.; LANDIS, C. R. Valency and bonding A Natural Bond Orbital Donor–Acceptor Perspective. [s.l: s.n.].

WF, V. et al. Dihydroquinoline derivative as a potential anticancer agent: synthesis, crystal structure, and molecular modeling studies. **Molecular diversity**, v. 25, n. 1, p. 55–66, fev. 2021.

WIBERG, K. B. Basis set effects on calculated geometries: 6-311++G** vs. aug-cc-pVDZ. Journal of Computational Chemistry, v. 25, n. 11, p. 1342–1346, 2004.

WOOD, P. A. et al. Analysis of the compression of molecular crystal structures using Hirshfeld surfaces. **CrystEngComm**, v. 10, n. 4, p. 368–376, 2008.

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

ANEXO – ARTIGO PUBLICADO

Computational and Theoretical Chemistry 1238 (2024) 114751



Comparative structural analysis of anhydrous and monohydrated polymorphs of diclofenac diethylammonium: Implications for stability, dissolution, and bioavailability

Lóide O. Sallum^{a,*}, Waléria N. Siqueira^b, Antônio S.N. Aguiar^a, Vitor S. Duarte^{b,c}, Samuel B.S. Sales^a, Géssika Lobo^a, Marcelo Z. Hernandes^d, Ademir. J. Camargo^{a,c}, Hamilton B. Napolitano^{a,c,**}

* Laboratório de Novos Materiais, Universidade Evangélica de Goiás, Anàpolis, OO, Brasil

^b Laboratório de Polimorfumo Molecular, Paculdade SENAI Roberto Mange, Anápolis, GO, Brasil

⁶ Orupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO, Brasil

^d Laboratòrio de Química Teórica Medicinal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PB, Brasil

ARTICLE INFO

Keywords: Diclofenac diethylammonium Solid state Solvent effect Ab initio

ABSTRACT

Diclofenac diethylammonium belongs to the class of non-steroidal anti-inflammatory drugs, and it is widely used to relieve pain and reduce systemic inflammation. This drug exists in polymorphic forms, which can directly affect the ability to process the drug, as well as drug product dissolution, stability, and bioavailability. Considering the worldwide regulatory guidance for polymorphs in drug substances, a detailed structural analysis of two polymorphs exhibiting the anhydrous and monohydrated structures of diclofenac diethylammonium is presented here, using the supramolecular arrangement and its relationship with structural-physicochemical properties. The polymorph's structures show conformational differences in the carboxylic group caused by coordinated water molecules presented in the monohydrated polymorphic structure. Both polymorphs have the supramolecular arrangement stabilized by N—H…O and C—H…Cl intermolecular interactions, but the monohydrated molecule presents a strong O—H…O intermolecular interaction due to the presence of a water molecule. Hirshfeld surface analysis showed C—H… π and π ... π contacts in the anhydrous and monohydrated polymorphs respectively. Theoretical results, including solvent effect with explicit and implicit approaches for water, indicated the kinetic stability of the diclofenac diethylammonium drug and showed susceptible electrophilic attacks occurring in the region close to the carbonyl oxygen atom.

1. Introduction

Diclofenac is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), and its therapeutic effects occur by inhibiting the synthesis of prostaglandins by cyclooxygenase (COX) [1,2]. Diethylammonium [2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl] acetate (DDEA) is designed for topical application to relieve pain, reduce inflammation, and decrease swelling in painful conditions that affect the joints and muscles. DDEA is absorbed through the skin, and follows through in deep inflamed tissues, rather than in the bloodstream. DDEA is a white to light beige crystalline powder and is a hygroscopic drug. It is a biopharmaceutical classification system (BCS) class II drug with solubility in alcohol (ethanol and methanol); it is slightly soluble in water and acetone and practically insoluble in ether and sodium hydroxide [3-6].

Molecular polymorphism comprises variations on molecular conformation within the same chemical compound in the solid state – It means that the same molecule can be found in different crystal forms [7]. In solid state chemistry, polymorphism is described by different and distinct solid phases in more than one three-dimensional arrangement, and with frequent differences in molecular shape and intermolecular interactions, also showing different physical-chemical properties. Some of these properties, in particular solubility and dissolution rate, are important in determining the uptake rate of drugs that account for developing an appropriate formulation [8–10]. Thus, the polymorphism

* Corresponding author.

** Corresponding author at: Laboratório de Novos Materiais, Universidade Evangélica de Goiás, Anápolis, GO, Brazil. E-mail addresses: loide.sallum@gmail.com (LO. Sallum), hamilton@ueg.br (H.B. Napolitano).

https://doi.org/10.1016/j.compte.2024.114751

Received 12 March 2024; Received in revised form 1 July 2024; Accepted 4 July 2024

Available online 6 July 2024

2210-271X/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, Al training, and similar technologies.