



Ciências
ULisboa

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA

Síntese, Caracterização e Estudo Energético de Diferentes Fases Cristalinas do Ácido Fumárico

Bernardo Romeu de Campos

Licenciatura em Química Tecnológica

Projeto Tecnológico

Orientado por Doutor Carlos Eduardo Sabino Bernardes

2021

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Doutor Carlos Eduardo Sabino Bernardes, pela orientação e transmissão de conhecimentos, que me permitiram desenvolver as competências necessárias dentro e fora do laboratório para a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório pela atenção e pelos ensinamentos transmitidos.

Ultimamente, à minha mãe pelo apoio incondicional, ajuda e disponibilidade ao longo de todo o meu percurso acadêmico, que me permitiu chegar até aqui.

Obrigado a todos.

Resumo

Polimorfismo é o fenômeno pelo qual um composto pode existir em duas ou mais formas cristalinas diferentes. Estas possuem diferentes propriedades físicas logo é importante estudar os compostos que apresentam este comportamento.

No âmbito deste projeto estudou-se o polimorfismo do ácido fumárico, composto muito utilizado na indústria farmacêutica e alimentar. Este composto possui quatro polimorfos identificados, no entanto só há conhecimento das estruturas de dois polimorfos, sendo eles a Forma I e a Forma II.

Neste contexto, os objetivos deste projeto passaram por tentar sintetizar a Forma II do ácido fumárico através de sublimação, verificar a existência de transições sólido-sólido e determinar experimentalmente a entalpia de sublimação molar padrão dos polimorfos do ácido fumárico. Estudos anteriores mostraram que a Forma II era sintetizável através de sublimação. Decidiu-se revisitar esta metodologia para tentar obter esta fase. Este estudo foi realizado com um sublimador que permite sublimar o composto usando condições próximas do equilíbrio entre a fase sólida e gasosa e utilizando um segundo sistema onde o composto é recuperado num dedo frio, ambos sob vácuo. Após caracterização por difração de raios-X das amostras sublimadas, foi verificado que apenas usando o sublimador com dedo frio é possível obter a Forma II, apesar desta não se encontrar pura do ponto de vista de fase.

Estudos anteriores indicaram ainda a possibilidade de haver transições de fase não discutidas anteriormente na literatura. Para investigar esta possibilidade, realizaram-se estudos de calorimetria diferencial de varrimento (DSC) com o objetivo de estudar estas possíveis transições, e avaliar o ponto de fusão do ácido fumárico. Verificou-se a existência de uma transição de fase a 473 K e uma temperatura de fusão de 564 K.

Finalmente, foi determinada a entalpia de sublimação molar padrão do ácido fumárico por microcalorimetria Calvet. O resultado obtido a 298,15K para a Forma I do ácido fumárico foi $\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(298,15 \text{ K})=121,0 \pm 1,2 \text{ kJ. mol}^{-1}$.

Palavras-chave: ácido fumárico, polimorfismo, microcalorimetria Calvet, entalpia de sublimação, difração de raios-X, calorimetria diferencial de varrimento.

Abstract

Polymorphism is the phenomenon whereby a compound can exist in two or more different crystalline forms. These have different physical properties, so it's important to study the compounds that exhibit this behavior.

Within the scope of this project, the polymorphism of fumaric acid, a compound widely used in the pharmaceutical and food industry, was studied. This compound has four identified polymorphs, however, only the structures of two polymorphs, namely Form I and Form II, are known.

In this context, the goal of this project was to try to synthesize Form II of Fumaric acid through sublimation, verify the existence of solid-solid transitions and experimentally determine the standard molar enthalpy of sublimation of the fumaric acid polymorphs. Previous studies suggested that Form II was synthesizable through sublimation. This method was revisited trying to achieve this phase. This study was carried out with a sublimator that allows the compound to be sublimated using conditions close to the equilibrium between the solid and gaseous phase and using a second system where the compound is recovered in a cold finger, both under vacuum. After characterization by X-ray diffraction of the sublimated samples, only by using the sublimator with a cold finger was it possible to obtain Form II, although not pure from a phase point of view. Previous studies have also indicated the possibility of phase transitions not previously discussed on the literature. To investigate this possibility, differential scanning calorimetry (DSC) studies were carried out in order to study these transitions, and to verify the melting point of fumaric acid. There was a phase transition recorded at 473 K and the sample melted at a temperature of 564 K.

Finally, the standard molar enthalpy of sublimation of fumaric acid was determined by Calvet microcalorimetry. The result obtained at 298.15 K for Fumaric acid Form I was $\Delta_{\text{sub}}H_{\text{m}}^{\circ}(298,15 \text{ K})=121,0 \pm 1,2 \text{ kJ. mol}^{-1}$.

Keywords: fumaric acid, polymorphism, Calvet microcalorimetry, enthalpy of sublimation, X-ray diffraction, differential scanning calorimetry.

Índice

Agradecimentos.....	2
Resumo.....	3
Abstract	4
Índice.....	5
Lista de Abreviaturas	6
Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas.....	8
Introdução	9
Material e Métodos	12
Preparação das fases cristalinas do Ácido Fumárico.....	12
Difração de raios-X de pós.....	13
Calorimetria Diferencial de Varrimento.....	14
Microcalorimetria Calvet	15
Ambiente e Segurança.....	21
Estimativa de Custos	22
Resultados e Discussão	23
Síntese e Caracterização dos Polimorfos do Ácido Fumárico.....	23
Calorimetria Diferencial de Varrimento.....	24
Microcalorimetria Calvet	26
Conclusões	29
Bibliografia	30

Lista de Abreviaturas

DRX – Difração de Raios-X de pós

DSC – Calorimetria de Varrimento Diferencial

ECHA – Acrónimo inglês para Agência Europeia de Químicos

FCUL – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

MSDS – Acrónimo inglês para Ficha de Dados de Segurança

PVP – Preço de Venda ao Público

REACH – Acrónimo inglês para Registo, Avaliação, Autorização e Restrição de Químicos

AF – Ácido Fumárico

Metaestável – qualquer estado do sistema diferente do estado de equilíbrio mais estável

$\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ$ – Entalpia de sublimação molar padrão

$\Delta_{\text{sub}}h$ – Entalpia de sublimação específica

$\langle x \rangle$ – Valor médio da grandeza x

$C_{p,m}^\circ$ – Capacidade calorífica molar padrão a pressão constante

c_p – Capacidade calorífica específica a pressão constante

ε – Constante de calibração

T – Temperatura

Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura 2D de uma molécula de Ácido Fumárico	10
Figura 2 – Empacotamento da Forma I do Ácido Fumárico	10
Figura 3 -Empacotamento da Forma II do Ácido Fumárico	11
Figura 4 - Sublimador com caixa de petri sob vácuo	12
Figura 5 - Sublimador de dedo frio sob vácuo	13
Figura 6 - Difrátometro Philips Analytical PW 3050/60 X’Pert PRO	13
Figura 7 - Calorímetro de Varrimento Diferencial DSC 7 da Perkin-Elmer.....	14
Figura 8 - Esquema do microcalorímetro Calvet utilizado neste trabalho.	16
Figura 9 - Esquema ilustrativo das experiências que se obtêm no Calvet:.....	17
Figura 10 - Ciclo de transição de estados e temperaturas	18
Figura 11 - Sobreposição dos difratogramas da amostra de origem, Forma I, Forma II, sublimador com dedo frio, sublimação em quase-equilíbrio.....	23
Figura 12 - Aquecimento do ácido fumárico comercial até fundir	24
Figura 13 - Ciclo térmico a que foi submetido o Ácido Fumárico.....	25

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Pictogramas, Declaração de Perigo e Declarações de Precaução associados ao composto utilizado.....	21
Tabela 2 - Estimativa de custos associados à realização do projeto.....	22
Tabela 3 – Resultados da determinação da entalpia de sublimação específica do ácido fumárico a 419.22 K determinada por microcalorimetria Calvet	26
Tabela 4 - Resultados da determinação da capacidade calorífica específica dos tubos capilares.	27
Tabela 5 - Resultados das experiências de microcalorimetria Calvet para determinação da capacidade calorífica molar padrão média	27

Introdução

O trabalho realizado no âmbito deste projeto tecnológico refere-se ao estudo do polimorfismo do ácido fumárico, tanto do ponto de vista estrutural como energético. Polimorfismo define-se como a possibilidade de um composto possuir formas cristalinas diferentes [1]. Cada polimorfo tem propriedades físicas diferentes, como temperatura de fusão e sublimação, entalpia, cor, dureza, densidade, solubilidade [1]. Neste sentido o controlo do polimorfismo e da síntese deste tipo de compostos permite modelar essas mesmas propriedades físicas para o fim desejado, sem alterar a molécula do composto que o constitui [1,2].

Na indústria farmacêutica o conhecimento acerca do polimorfismo dos compostos é extremamente importante. Um exemplo representativo é o do caso do fármaco Norvir, cujo princípio ativo ritonavir, utilizado no tratamento da SIDA. Originalmente, este era administrado numa solução saturada em cápsulas semissólidas [3]. Após 2 anos de produção e 240 lotes de cápsulas de Norvir produzidas sem quaisquer problemas de estabilidade, ocorreu uma falha nos testes de solubilidade. [4]. Ao estudar o conteúdo das cápsulas verificou-se a presença de um novo polimorfo, então intitulado de Forma II, que apresentava uma solubilidade menor e uma estabilidade maior que a Forma I. Como resultado, tornou-se impossível voltar a produzir a Forma I do composto, tendo sido necessário reformular a forma como o medicamento era administrado aos doentes [4].

A maior parte das substâncias é utilizada e aplicada em condições de temperatura e pressão próximas do ambiente. As variações de pressão atmosférica normalmente não originam transições de fase. Porém, as variações de temperatura ambiente muitas vezes podem induzir estas mesmas transições visto que podem ter amplitudes consideráveis entre Verão e Inverno.

Numa dada condição de temperatura e pressão, um dos polimorfos é mais estável que o outro. Logo, a forma metaestável terá tendência a converter-se na fase mais estável. Um bom indicador da estabilidade relativa de polimorfos é a sua diferença de entalpia de sublimação. Quanto maior esta diferença, maior a probabilidade da fase com a entalpia de sublimação maior ser a mais estável[1]. Para além disso, a avaliação das entalpias de sublimação pode ser ainda usada para estudar as interações intermoleculares e, assim, por exemplo, serem empregues para avaliar campos de força moleculares usados em

simulações de dinâmica molecular [1,5,6].

O ácido fumárico, Figura 1, é utilizado na indústria alimentar como um regulador de acidez e pela indústria farmacêutica no tratamento da esclerose múltipla e psoríase [7]. É um sólido cristalino incolor, com fórmula química ($C_4H_4O_4$), e uma massa molar de 116,07 g/mol[8].

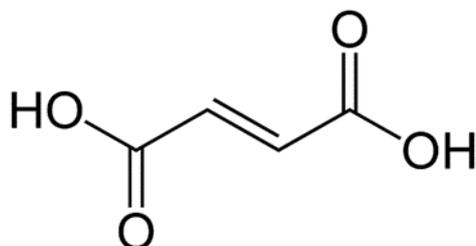


Figura 1 - Estrutura 2D de uma molécula de Ácido Fumárico

O ácido fumárico apresenta quatro polimorfos, dos quais apenas se conhece a estrutura de dois, sendo estes a Forma I, Figura 2, determinada em 1965 por C.J. Brown [9] e a Forma II, Figura 3, determinada em 1966 por A.L. Bednowitz e B. Post [10].

A Forma I apresenta um empacotamento monoclinico geminado, grupo espacial $P2_1/c$, com seis moléculas na célula unitária. A Forma II apresenta um empacotamento triclinico, grupo espacial $P\bar{1}$, com uma molécula na célula unitária [9,10].

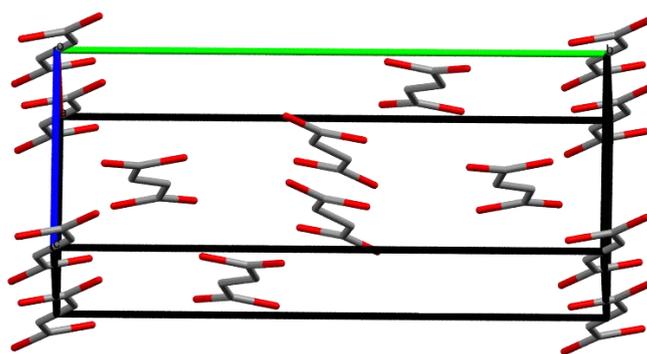


Figura 2 – Empacotamento da Forma I do Ácido Fumárico

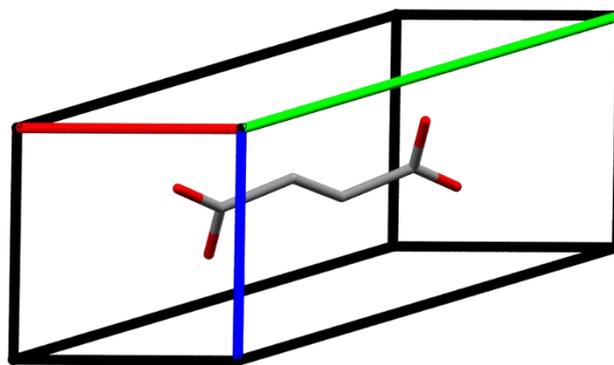


Figura 3 -Empacotamento da Forma II do Ácido Fumárico

Estudos realizados no Grupo de Energética Molecular da FCUL sugeriram que podem existir transições de fase não descritas na literatura para o ácido fumárico. No âmbito deste projeto tecnológico revisitou-se o polimorfismo do ácido fumárico, visando verificar a existência de transições de fase não descritas anteriormente. Estudou-se também a obtenção/síntese da Forma II, pois até ao momento não foi possível preparar a Forma II pura do ponto de vista de fase cristalina. Para este efeito, foram realizados estudos de sublimação em vácuo do ácido fumárico, difração de raios-X em pó das diferentes amostras obtidas, e estudos de calorimetria diferencial de varrimento (DSC), para determinar em que condições se dão as transições de fase.

Finalmente, foi ainda determinada por microcalorimetria Calvet entalpia de sublimação da forma I do ácido fumárico. A motivação para este estudo relaciona-se com o facto de os dados na literatura, determinados entre 1934 e 1977, apresentarem uma discrepância entre si de cerca de $13 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ [11].

Material e Métodos

Preparação das fases cristalinas do Ácido Fumárico

O ácido fumárico (CAS 110-17-8) utilizado ao longo deste projeto foi adquirido da Acros Organics, apresenta uma pureza de 99%.

Para a sublimação do ácido fumárico foram utilizados dois métodos: (i) um sublimador como mostrado na Figura 4, onde se sublima o composto em condições próximas do equilíbrio entre a fase gasosa e cristalina; (ii) uma montagem de um sublimador onde o composto é recuperado num dedo frio.

Na montagem da Figura 4, colocou-se a amostra dentro de uma caixa de Petri tapada, enquanto na montagem da Figura 5, a amostra foi colocada na base da câmara de sublimação. Em ambos os ensaios os sublimadores estavam sob vácuo a uma pressão de 13 Pa e a uma temperatura aproximada de 413.15K.

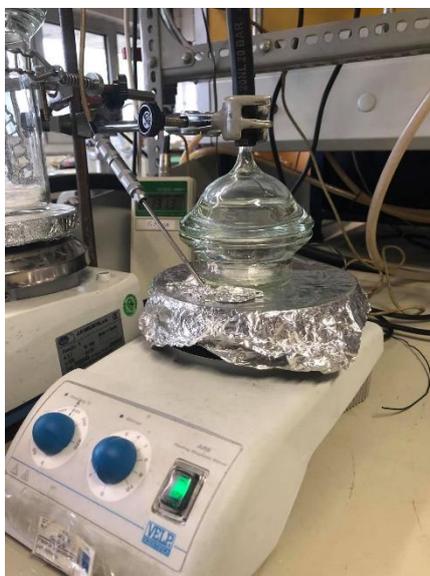


Figura 4 - Sublimador com caixa de petri sob vácuo



Figura 5 - Sublimador de dedo frio sob vácuo

Difração de raios-X de pós

Os difratogramas gerados através das análises de difração de raios-X de pós (XRPD) foram utilizados para caracterizar o ácido fumárico presente no laboratório e as amostras sublimadas. Estes foram obtidos num aparelho Philips X'Pert PRO, Figura 6, com um goniómetro vertical (PW 3050/60). O aparelho estava equipado com um detetor X'Celerator com aquisição automática de dados (X'Pert Data Collector, v2.0b, software). A fonte de radiação utilizada foi de cobre ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$). A voltagem do tubo era de 40 kV e a amperagem de 30 mA.



Figura 6 - Difratómetro Philips Analytical PW 3050/60 X'Pert PRO

Calorimetria Diferencial de Varrimento

A calorimetria diferencial de varrimento (DSC) foi utilizada para verificar a ocorrência de transições de fase sólido-sólido do ácido fumárico e verificar a temperatura de fusão da amostra. O aparelho utilizado foi o DSC 7 da *Perkin-Elmer*, Figura 7, baseado no princípio de compensação de potência[12]. Está ligado a uma unidade TAC 7/DX da *Perkin-Elmer* que se encontra ligada a um computador que controla a experiência através do *software Pyris Thermal Analysis*, também da *Perkin-Elmer*.

O aparelho é constituído por uma célula onde se encontram dois fornos, que contêm o cadinho da amostra e uma referência (cadinho vazio). Os fornos são idênticos e estão equipados com sensores de temperatura. Através de ciclos térmicos de aquecimento e arrefecimento da amostra em estudo, regista o fluxo de energia em função da temperatura, permitindo determinar a energia e temperatura a que um dado processo físico ocorre.

Nas experiências realizadas, os cadinhos e as amostras foram pesadas numa ultramicrobalança Mettler XPU2 com uma precisão de $\pm 0,1 \mu\text{g}$. Durante as experiências utilizou-se uma taxa de aquecimento/arrefecimento de $5 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ sobre um fluxo dinâmico de azoto (Paxair 5.0) de $30 \text{ cm}^3\cdot\text{min}^{-1}$. As escalas de energia e de temperatura do aparelho foram calibradas através da medida da entalpia e temperatura de fusão do índio (*Perkin-Elmer*, $T_{\text{fus}} = 429.75 \text{ K}$, $\Delta_{\text{fus}}h = 28.45 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$).



Figura 7 - Calorímetro de Varrimento Diferencial DSC 7 da *Perkin-Elmer*

Microcalorimetria Calvet

A entalpia de sublimação do ácido fumárico foi determinada por microcalorimetria Calvet, utilizando o aparelho representado na Figura 8. O aparelho utilizado é um protótipo baseado num *DAM* Calvet, **1**, que pode ser utilizado desde a temperatura ambiente até cerca de 473 K. É constituído por dois pares de células, cada uma contendo um elemento de medida, **2**. A temperatura é controlada com uma precisão superior a $\pm 0,1$ K por um termóstato *Eurotherm 2404 PID* e medida com uma precisão de $\pm 0,01$ K por um termómetro de resistência de platina *Tecnisis* de 100Ω , inserida num dos poços não utilizado nas experiências. Este termómetro encontra-se ligado a quatro fios a um multímetro *Agilent 34970A*. Nos poços onde se realizam as experiências são introduzidas duas células idênticas, **3**, uma delas utilizada como referência e a outra utilizada para a amostra. A diferença de fluxo de calor através dos termopares, **4**, é medida por um nanovoltímetro *Hewlett-Packard 34420A*. As células são constituídas por um tubo de *Teflon*, **5**, onde a extremidade inferior é um cilindro de latão, **6**, com uma resistência de fio de manganina de 200Ω , **7**, que é utilizada na calibração elétrica do aparelho por efeito de Joule. Dentro do tubo de *Teflon* e do cilindro de latão encontra-se uma célula de vidro, **8**, onde se dá o processo de sublimação. Dentro da célula de vidro, **8**, a atmosfera é controlada por ligação, **9**, a uma linha de vácuo/azoto que permite baixar a pressão até 10^{-3} Pa usando uma bomba rotatória *Edwards E2M2* ou manter uma atmosfera de N₂ (*Linde*, fração volúmica 0,99999).

Em cima da célula de vidro, **8**, está um forno mais pequeno, **10**, onde o capilar com a amostra, **11**, pode ser aquecido antes de ser introduzido na célula. Na base deste existe um pino móvel, **12**, que, quando recuado permite a queda da amostra para a célula, **8**, através do funil **13**. Para medir a temperatura no interior do forno, foi utilizado um sensor de resistência de platina, ligada numa configuração de quatro fios a um multímetro *Agilent 34970A*. Todas as sondas usadas neste trabalho foram calibradas usando como referência um termómetro previamente aferido de acordo com a norma ITS-90 numa instalação acreditada. A aquisição dos dados e a calibração elétrica foram controladas por um computador através do programa CBCAL 1.0.

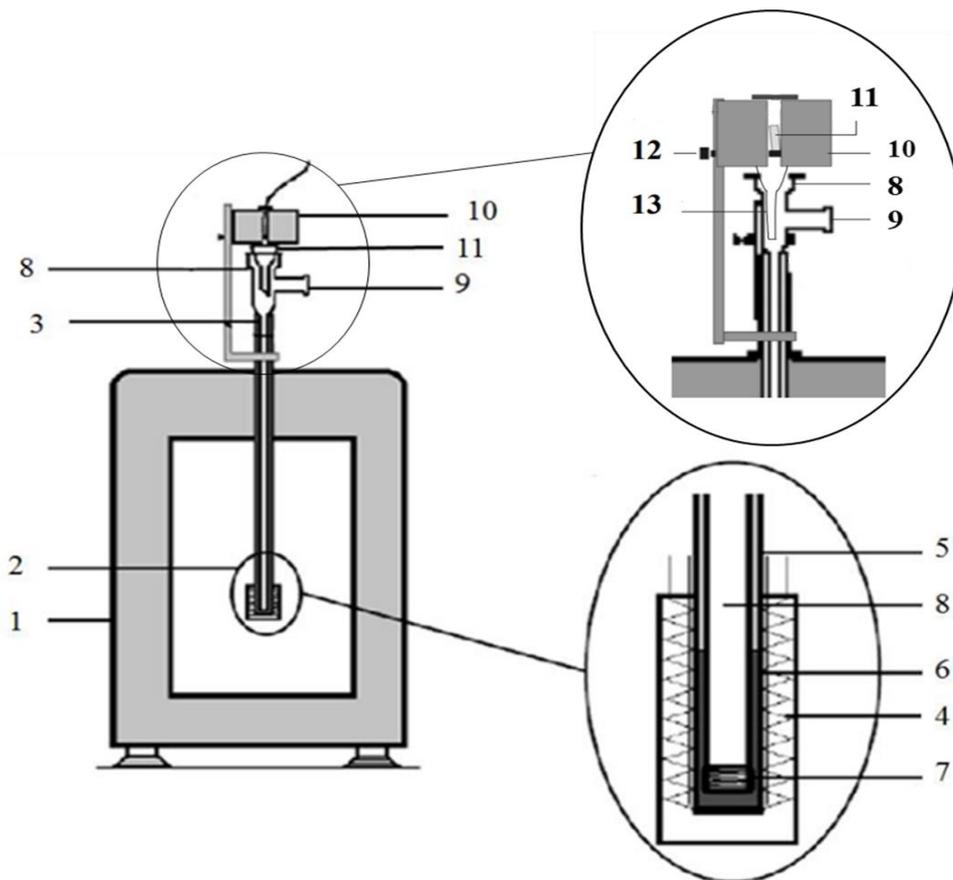


Figura 8 - Esquema do microcalorímetro Calvet utilizado neste trabalho: protótipo de um microcalorímetro DAM Calvet (1), elemento calorimétrico (2), célula de medida (3), termopar (4), tubo de Teflon (5), cilindro de latão (6), resistência de fio de manganina (7), célula de vidro (8), conexão à linha de vácuo/azoto (9), forno (10), amostra (11), pino móvel (12), funil (13).

O resultado da experiência é apresentado como uma diferença entre o fluxo de calor da célula calorimétrica de referência e a que contém a amostra em função do tempo. Na Figura 9 está representado resultado típico de uma experiência de microcalorímetro Calvet. As experiências não necessitam de ser realizadas sequencialmente. O processo **I** corresponde à evacuação do sistema que continha azoto, ou seja, a uma experiência de branco que contabiliza o efeito da remoção de N_2 do interior das células calorimétricas. O evento **II** corresponde à introdução de azoto no sistema, o que permite colocar a célula calorimétrica em condições de receber amostra. Após introdução do capilar no calorímetro observa-se o processo **III**, que corresponde ao aquecimento da amostra desde 298,25 K até à temperatura a que se encontra o aparelho. Após o retorno do fluxo de calor para a linha de base, procede-se à evacuação do sistema, **IV**, permitindo recolher o sinal relativo à sublimação do composto. O evento **V** corresponde a uma calibração elétrica, que é efetuada em vácuo.

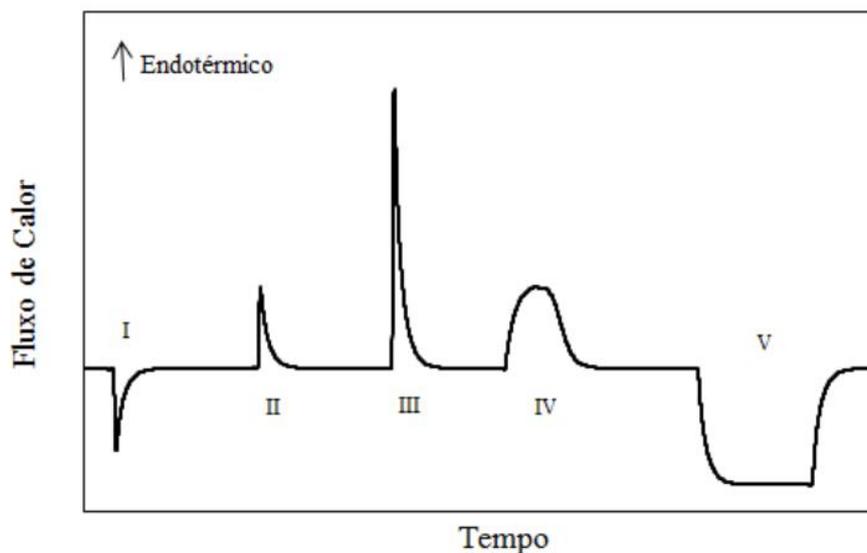


Figura 9 - Esquema ilustrativo das experiências que se obtêm no Calvet: **I**, experiência de branco; **II**, introdução de azoto no sistema; **III**, pico correspondente à introdução da amostra no calorímetro e subsequente aquecimento desde a temperatura ambiente até à temperatura da sublimação; **IV**, sublimação do composto após evacuação do ar do sistema; **V**, calibração elétrica da célula calorimétrica.

Numa experiência típica, recolhe-se uma linha de base inicial após a introdução de azoto no sistema. O composto a estudar é introduzido num capilar de vidro Pyrex (1 cm de comprimento, 1,5 mm de diâmetro externo) pesado numa ultra-micro balança Mettler XPU2 com uma precisão de $\pm 0,1 \mu\text{g}$. Seguidamente, o capilar é colocado no forno **10** para estabilizar a uma temperatura de aproximadamente 298,15 K. Após estabilizar é deixado cair para o interior da célula de vidro **8** onde é registada a curva que corresponde ao aquecimento da amostra desde 298,15 K até à temperatura do calorímetro 419,22 K. O sistema é então evacuado para iniciar o processo de sublimação, obtendo-se a curva de sublimação **IV**. A entalpia de sublimação é calculada a partir da área, A , desta curva usando a equação:

$$\Delta_{\text{sub}} H_m^{\circ}(T) = \frac{M(A - A_b)}{m \cdot \varepsilon} \quad 1.$$

Onde, m e M correspondem, respetivamente, à massa e à massa molar do composto, A_b é uma correção devida ao efeito de remoção do N_2 do interior das células (curva **I** da Figura 9), e ε é o equivalente energético (constante de calibração) do aparelho. O valor de A_b é obtido através de uma série de ensaios em que se evacuou o sistema contendo apenas azoto. Os valores de ε , foram determinados pelo efeito de Joule, com recurso à equação:

$$\varepsilon = \frac{A_c}{V \cdot I \cdot t} \quad 2.$$

Onde, V e I são a voltagem e a intensidade de corrente, respetivamente, aplicados à resistência de manganina durante um determinado tempo t e A_c é a área da curva obtida na calibração (curva **V** da Figura 9).

O valor de entalpia de sublimação molar padrão a 298,15 K, $\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(298,15 \text{ K})$, obteve-se com recurso ao ciclo descrito na Figura 10 - Ciclo de transição de estados e temperaturas Figura 10.

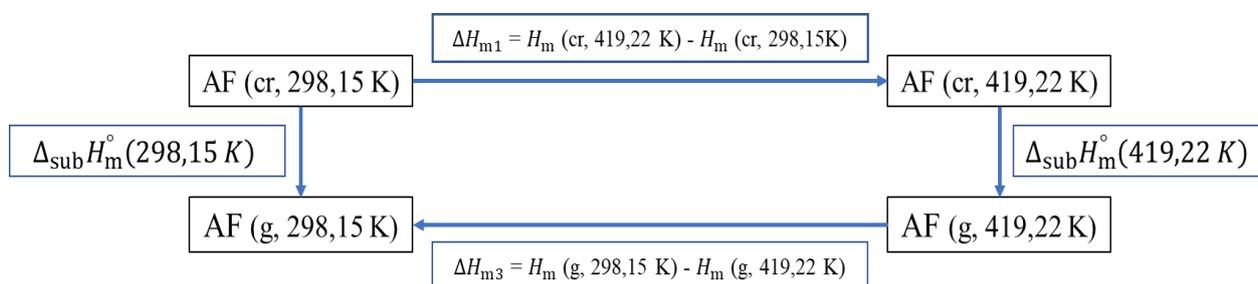


Figura 10 - Ciclo de transição de estados e temperaturas

De onde podemos retirar a seguinte equação:

$$\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(298,15 \text{ K}) = \Delta H_{m1} + \Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(419,22 \text{ K}) + \Delta H_{m3} \quad 3.$$

O valor de ΔH_{m1} é determinado a partir do valor de capacidade calorífica molar média do composto no intervalo de temperatura de 298,15 K a 419,22 K, definido por $C_{p,m}^\circ(T_m)$, onde T_m representa a temperatura média do intervalo estudado. Este foi determinado

através da curva de aquecimento do capilar com a amostra após ser deixado cair na célula calorimétrica, processo **III** da Figura 9. A área, A , desta curva permite obter $C_{p,m}^{\circ}(T_m)$ de acordo com:

$$C_{p,m}^{\circ}(T_m) = \frac{\frac{M}{m} \left(\frac{A}{\varepsilon} - m_{\text{capilar}} \cdot c_{p,\text{capilar}} \cdot \Delta T \right)}{\Delta T} \quad 4.$$

onde, ΔT é a diferença de temperatura entre o forno e o calorímetro; m_{capilar} e $c_{p,\text{capilar}}$ são, respetivamente, a massa e a capacidade calorífica específica do capilar de vidro. O último é determinado por meio da seguinte equação:

$$c_{p,\text{capilar}} = \frac{\frac{A_{\text{cap}}}{\varepsilon} \cdot m_{\text{capilar}}}{\Delta T} \quad 5.$$

Em que, A_{cap} é a área da curva de aquecimento do capilar de vidro vazio.

Finalmente, obtém-se o valor de ΔH_{m1} como:

$$\Delta H_{m1} = H_m(\text{cr}, 419,22 \text{ K}) - H_m(\text{cr}, 298,15 \text{ K}) = C_{p,m}^{\circ}(T_m) \cdot \Delta T \quad 6.$$

O valor de ΔH_{m3} é determinado a partir da capacidade calorífica molar padrão a pressão constante do composto no estado gasoso, $C_{p,m}^{\circ}(g)$, usando a relação:

$$\Delta H_{m3} = \int_{298,15 \text{ K}}^{419,22 \text{ K}} C_{p,m}^{\circ}(g) dT \quad 7$$

Esta foi determinada com recurso a métodos de termodinâmica estatística, utilizando frequências calculadas com base no modelo da teoria do funcional de densidade

(conhecidos pelo acrônimo em inglês, DFT), B3LYP/aug-cc-pvTZ [13,14,15]. Todos os cálculos de frequências foram executados partindo de geometrias moleculares otimizadas. As frequências vibracionais foram escaladas com um fator de 0,968[16] e, finalmente, utilizadas no cálculo da capacidade calorífica em fase gasosa em função da temperatura, utilizando o programa THERMOCAL 1.0. Todos os cálculos DFT referidos neste trabalho foram executados pelo Dr. Carlos Bernardes.

Ambiente e Segurança

Foram adotados todos os princípios previstos no Regulamento (CE) N° 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho de 18 de dezembro de 2006, relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (REACH), assim como obedecidas as normas da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL – Gabinete de Segurança, Saúde e Sustentabilidade), relativamente à promoção da segurança nos locais de trabalho, em especial os espaços de laboratório.

No manuseamento do ácido fumárico, todas as medidas de segurança foram adotadas e foram utilizados os equipamentos de proteção individual, nomeadamente bata, óculos de proteção e luvas, com o intuito de salvaguardar os riscos e requisitos estabelecidos na ficha de Dados de Segurança (MSDS) do ácido fumárico expressos na Tabela 1.

De acordo com o Decreto-Lei n.º 102-D/2020, de 10 de dezembro, que estabelece o regime geral da gestão de resíduos, a recolha e consequente eliminação dos resíduos associados a este trabalho enquadrou-se na política de gestão de resíduos perigosos estabelecida na FCUL, designadamente no que se refere aos Grupos III (Resíduos de Risco Biológico).

Tabela 1 - Pictogramas, Declaração de Perigo e Declarações de Precaução associados ao composto utilizado

Composto	Pictogramas	Declaração de Perigo	Declarações de Precaução
Ácido Fumárico		M319	P305+P351+P338

Estimativa de Custos

Para o cálculo dos custos que este Projeto Tecnológico acarreta, considerou-se uma estimativa da quantidade de reagente utilizado e o respetivo preço de venda ao público no mercado dos fornecedores, tal como o custo de utilização da aparelhagem, demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Estimativa de custos associados à realização do projeto

Composto / Aparelhagem	PVP	Estimativa de quantidade utilizada	Custo
Ácido Fumárico, 99+%, ACROS Organics	34,38€/100g	20 gramas	6,88€
DRX	2,00€/30min	30 minutos	2,00€
DSC	2,00€/h 1000€/200 cadinhos	4 horas 6 cadinhos	38,00€
Calvet	3,00€/h	36h	108,00€

Somando todos os valores, o custo associado a este projeto foi de 154,88€. No entanto, este custo é referente a um laboratório já equipado com os aparelhos base comuns e tudo o que é necessário para estes funcionarem da melhor maneira. Não estão também incluídos valores referentes às estruturas necessárias para o normal funcionamento de um laboratório, como por exemplo os sistemas de vácuo, e ainda materiais de laboratório acessórios necessários para a realização deste projeto como balanças, computadores, entre outros. O custo de realização deste projeto de raiz, como é de esperar, seria muito superior ao custo calculado através da Tabela 2.

Resultados e Discussão

No âmbito deste projeto tecnológico um dos principais objetivos era a síntese da Forma II do ácido fumárico. Como referido anteriormente, estudos anteriores sugerem que esta fase poderá ser preparada através de sublimação, por isso foi a metodologia aplicada. Outro dos objetivos deste projeto foi o estudo da existência de transições de fase do ácido fumárico que não tenham sido previamente reportadas na literatura. Finalmente, foi determinada a entalpia de sublimação molar padrão da Forma I do composto, de forma a esclarecer as inconsistências observadas entre os valores existentes na literatura.

Síntese e Caracterização dos Polimorfos do Ácido Fumárico

Foram caracterizadas por difração de raios-X as amostras resultantes das sublimações e a amostra de partida. Estas foram comparadas, na Figura 11, com os difratogramas simulados com o programa Mercury, usando as estruturas cristalinas da Forma I e Forma II reportadas anteriormente na literatura [9,10].

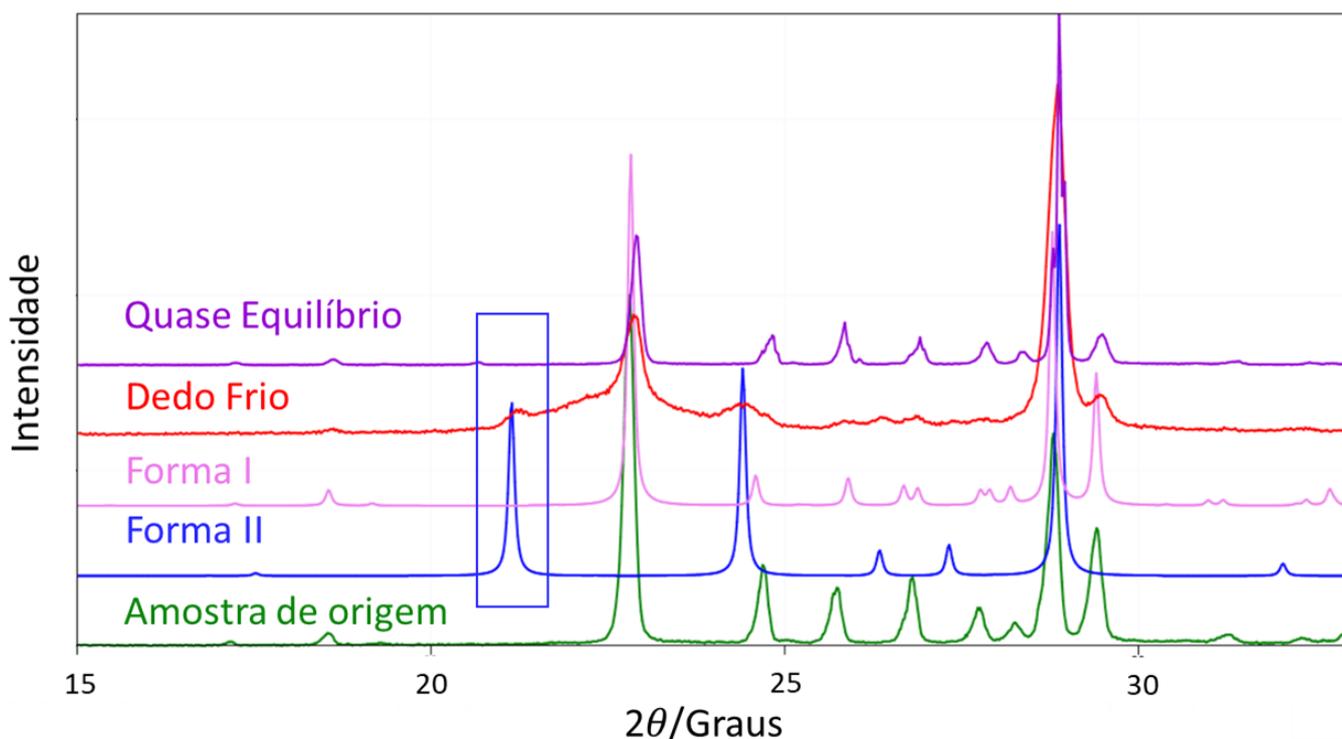


Figura 11 - Sobreposição dos difratogramas da amostra de origem, Forma I, Forma II, sublimador com dedo frio, sublimação em quase-equilíbrio.

Ao analisar os difratogramas dos polimorfos do ácido fumárico da literatura, conseguimos distinguir um pico característico da Forma II a aproximadamente 21° , assinalado no gráfico, que pode ser utilizado para detetar a presença desta fase numa amostra.

Tanto a amostra de origem como a amostra sublimada em condições de “quase equilíbrio” entre a fase de vapor e o sólido, não contêm a forma II na sua composição, sendo os difratogramas muito semelhantes com o da forma I. No difratograma da amostra obtida a partir do sublimador com um dedo frio é possível identificar a $2\theta = 22^\circ$ a existência de um pico de baixa intensidade, sugerindo a presença de forma II na amostra. No entanto, dado que também são visíveis vários picos da forma I, conclui-se que foi obtida uma amostra que contém uma mistura da fase I e II.

Calorimetria Diferencial de Varrimento

O estudo da amostra de ácido fumárico da Acros Organics está apresentado na Figura 12. A amostra fundiu a uma temperatura aproximada de 564 K, valor concordante com o ponto de fusão tabelado de 559.15 K [8].

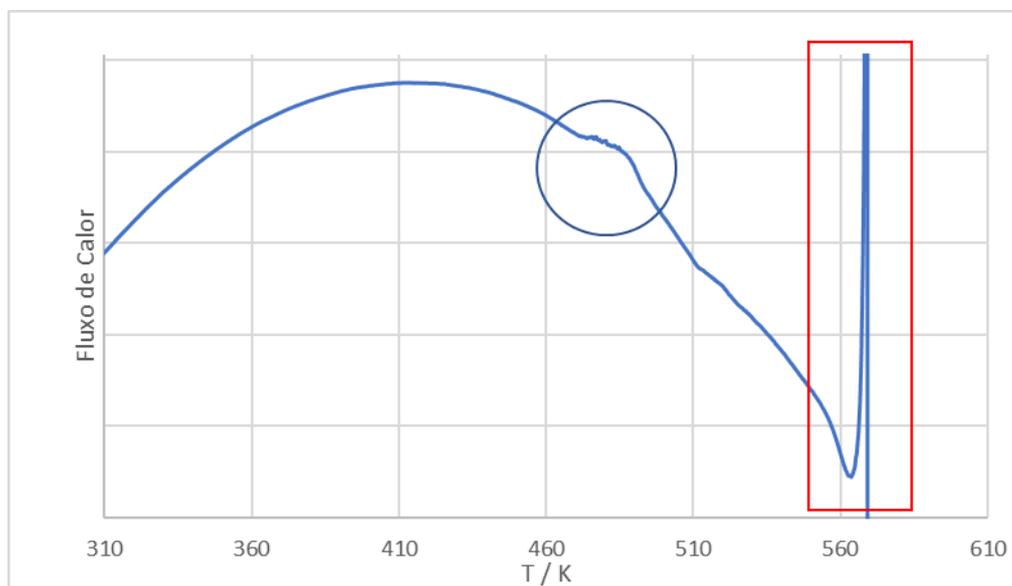


Figura 12 - Aquecimento do ácido fumárico comercial até fundir

Como podemos observar na zona assinalada com um círculo na Figura 12, verifica-se a existência de um evento térmico a uma temperatura de aproximadamente 473 K não discutida anteriormente na literatura. Na zona assinalada com um retângulo observa-se a fusão e imediata decomposição do ácido fumárico na zona dos 560 K.

O estudo seguinte consistiu num ciclo térmico com o objetivo de “envelhecer” a amostra tornando-a mais suscetível a eventos térmicos. Este estudo consistiu no arrefecimento da amostra de 298,15 K até 253,15 K, aquecimento até 453 K , arrefecimento até 253,15 K e, por fim, um aquecimento até 493,15 K. O resultado obtido está apresentado na Figura 13, que mostra:

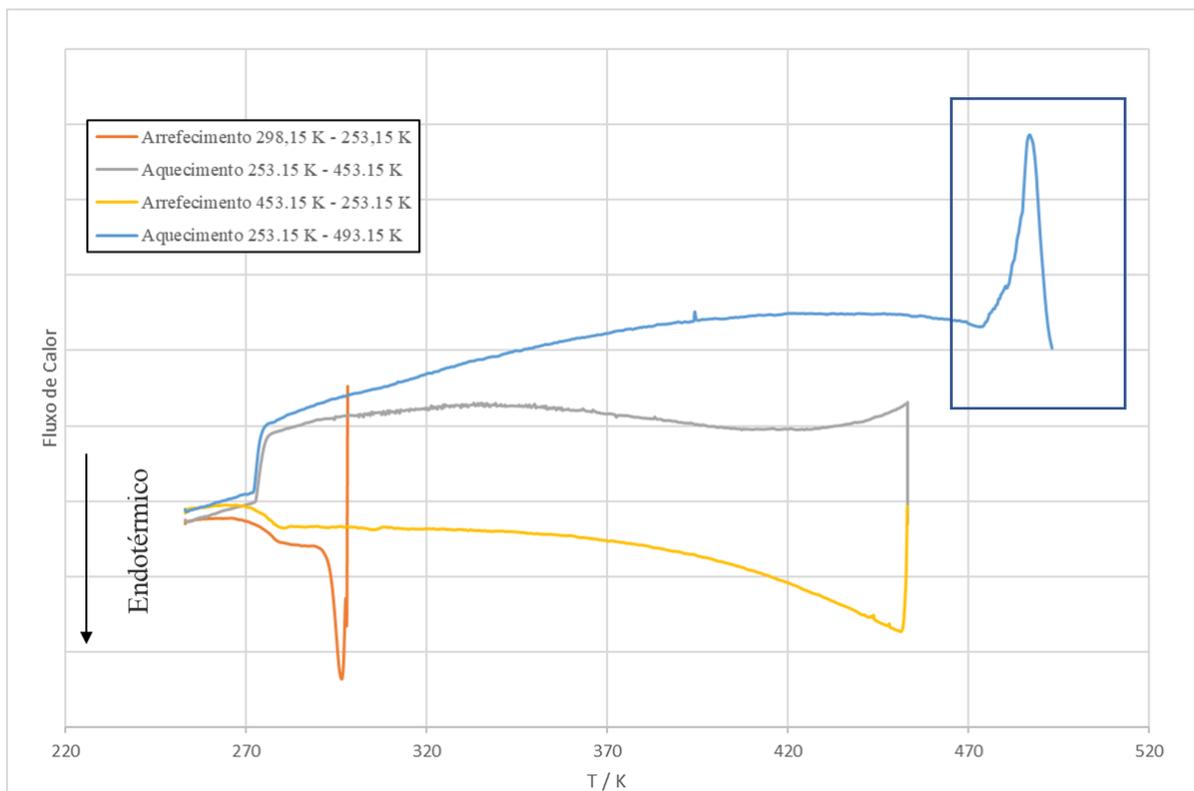


Figura 13 - Ciclo térmico a que foi submetido o Ácido Fumárico

Obteve-se um pico intenso a aproximadamente 473 K, indicador de uma transição de fase exotérmica. No segundo estudo a temperatura final é inferior à do estudo anterior com a intenção de não haver decomposição da amostra. Estes resultados indicam que o ácido fumárico apresenta transições de fase que não estão na literatura.

Microcalorimetria Calvet

Com o intuito de determinar a entalpia de sublimação molar padrão à temperatura de 298 K determinou-se primeiramente os valores de ΔH_{m1} , ΔH_{m3} e $\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(419,22 \text{ K})$.

Os resultados da determinação da entalpia de sublimação do ácido fumárico a 419,22 K obtidos neste trabalho encontram-se na Tabela 3, onde A_b representa a área do ensaio de branco, ε a constante de calibração, m a massa de amostra, A_{sub} a área da experiência e $\Delta_{\text{sub}}h$ a entalpia de sublimação específica. São também apresentados os valores médios das grandezas referidas com os respectivos erros. O erro associado à entalpia de sublimação específica, σ , foi determinado a partir de:

$$\sigma = 2 \cdot \langle \Delta_{\text{sub}}h \rangle \cdot \left[\frac{\langle \Delta_{\text{sub}}h \rangle}{\sigma_{\Delta_{\text{sub}}h}} + \frac{\langle \varepsilon \rangle}{\sigma_\varepsilon} \right] \quad 8$$

onde $\sigma_{\Delta_{\text{sub}}h}$ e σ_ε corresponde ao desvio-padrão da média das determinações da entalpia de sublimação específica, e da constante de calibração, respetivamente.

Multiplicando-se a média da entalpia de sublimação específica, $\Delta_{\text{sub}}h = 1022,050 \pm 3,185 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$, pela massa molar do ácido fumárico ($M = 116,072 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), obtém-se assim a entalpia de sublimação molar padrão a 419,22 K, $\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(419,22 \text{ K}) = 118,63 \pm 0,89 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Tabela 3 – Resultados da determinação da entalpia de sublimação específica do ácido fumárico a 419.22 K determinada por microcalorimetria Calvet

$A_b / \text{mV}\cdot\text{s}$	$\varepsilon / \text{mv W}^{-1}$	m / mg	$A / \text{mV}\cdot\text{s}$	$\Delta_{\text{sub}}h / \text{J}\cdot\text{g}^{-1}$
-3,016	62,267	8,1601	518,389	1023,161
-3,067	62,471	7,5176	474,126	1016,359
-2,587	62,929	7,0819	454,137	1033,707
-3,619	62,047	7,6592	485,127	1020,560
-3,690	62,720	7,9632	502,471	1016,463
	62,399			
$\langle A_b \rangle = -3,196 \pm 0,205 \text{ mV}\cdot\text{s}$	$\langle \varepsilon \rangle = 62,472 \pm 0,129 \text{ mv W}^{-1}$		$\langle \Delta_{\text{sub}}h \rangle = 1022,050 \pm 3,185 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$	

Determinou-se o valor $c_{p,\text{capilar}} = 0,856 \pm 0,001 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$, através de uma série de experiências independentes, das quais os resultados estão representados na Tabela 4.

Os resultados dos ensaios para obter a capacidade calorífica média são apresentados na Tabela 5, onde se obteve o valor $C_{p,m}^{\circ}(Tm) = 157,92 \pm 3,46 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$.

Tabela 4 - Resultados da determinação da capacidade calorífica específica dos tubos capilares.

$m_{\text{capilar}}/\text{mg}$	$A/\text{mV}\cdot\text{s}$	$t_{\text{forno}}/^{\circ}\text{C}$	$t_{\text{Calvet}}/^{\circ}\text{C}$	$C_{p,\text{capilar}}/\text{J g}^{-1}\text{K}^{-1}$
47,9678	310,315	25,03	146,01	0,856
45,8947	297,028	25,04	145,98	0,857
48,7069	314,9132	25,01	145,98	0,856
49,2400	319,6626	25,00	146,00	0,859
50,0062	322,8178	24,94	146,01	0,854
$\langle C_{p,\text{capilar}} \rangle = 0,856 \pm 0,001 \text{ J g}^{-1}\text{K}^{-1}$				

Tabela 5 - Resultados das experiências de microcalorimetria Calvet para determinação da capacidade calorífica molar padrão média

$\varepsilon/\text{mv W}^{-1}$	$m_{\text{capilar}}/\text{mg}$	$A/\text{mV}\cdot\text{s}$	m/mg	$T_{\text{Forno}}/\text{K}$	$T_{\text{Calvet}}/\text{K}$	$C_{p,m}^{\circ}(Tm)/\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
62,267	47,9678	407,667	8,1601	298,28	419,23	162,91
62,471	45,8947	395,559	7,0819	298,33	419,22	166,16
62,929	48,7069	427,459	7,6592	298,25	419,22	161,00
62,047	49,2400	433,551	4,5175	297,52	414,42	151,12
62,720	50,0062	463,054	4,8762	297,61	414,37	148,39
62,399						
$\langle \varepsilon \rangle = 62,472 \pm 0,129 \text{ mv W}^{-1}$				$\langle C_{p,m}^{\circ}(Tm, cr) \rangle = 157,92 \pm 3,46 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$		

O valor de ΔH_{m1} é determinado multiplicando o valor de capacidade calorífica molar média no estado sólido, $C_{p,m}^{\circ}(Tm)$ pela diferença entre a temperatura de trabalho e a temperatura ambiente, que toma o valor $\Delta T = 121,07 \text{ K}$, obtendo $\Delta H_{m1} = 19,12 \pm 0,42 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

O erro associado a esta grandeza foi avaliado a partir do desvio padrão da média, multiplicando o erro associado à capacidade calorífica molar média por ΔT .

O ajuste pelo método dos mínimos quadrados dos valores de capacidade calorífica molar padrão em fase gasosa calculados em função da temperatura, determinados com recurso a métodos de termodinâmica estatística, permitiu obter:

$$C_{p,m}^{\circ}(g) / (\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}) = -2.0882 \times 10^{-04} \cdot (T/\text{K})^2 + 0.4060 \cdot (T/\text{K}) + 19.726 \quad 9$$

Substituindo a equação anterior na Eq.7 e resolvendo o integral, obtemos $\Delta H_{m3} = -16,73 \pm 0,67 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Neste caso, dada a dificuldade em determinar o erro associado a esta correção, assume-se um erro arbitrário de 4%.

O valor da entalpia de sublimação molar padrão a 298,15 K foi finalmente calculado pela resolução da Eq.3., como:

$$\Delta_{\text{sub}} H_{\text{m}}^{\circ}(298,15 \text{ K}) = 19,12 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} + 118,63 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} - 16,73 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\Delta_{\text{sub}} H_{\text{m}}^{\circ}(298,15 \text{ K}) = 121,0 \pm 1,2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Este erro foi determinado através da raiz quadrada do somatório dos quadrados dos erros associados aos três valores determinados anteriormente.

Os valores presentes na literatura para a entalpia de sublimação molar padrão do ácido fumárico foram corrigidos para a temperatura 298,15 K, com base na Eq.6., utilizando o valor de, $C_{p,m}^{\circ}(Tm)$ determinado anteriormente, obtendo os valores aproximados: (i) 136 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; (ii) 146 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Um dos valores presentes na literatura não define a temperatura média de trabalho a que foi determinado logo não foi corrigido, no entanto apresenta um valor semelhante a (i).

Esta discrepância entre os valores tabelados e o valor determinado neste projeto, pode ser, por exemplo, o facto de terem usado polimorfos diferentes da forma I.

Conclusões

Na sequência de estudos do polimorfismo do ácido fumárico, procedeu-se primeiramente à tentativa de síntese da Forma II do mesmo por meio de sublimação. Após caracterização dos sublimados por difração de raios-X, embora não tenha sido uma síntese pura do ponto de vista de fase, verificou-se a existência da forma desejada.

Em seguida, estudou-se a existência de transições de fase do ácido fumárico e o seu ponto de fusão por meio de calorimetria diferencial de varrimento. O ponto de fusão foi registado a uma temperatura aproximada de 560 K, que está concordante com a literatura[8]. Confirmou-se ainda a existência de uma transição de fase a uma temperatura aproximada de 473 K. Na sequência dos estudos de (DSC) efetuados, é importante tentar perceber em que medida a fase formada à temperatura de 473 K é estável à temperatura ambiente e tentar perceber a que forma esta corresponde, um polimorfo novo, ou um dos que já foram descritos, mas cuja estrutura cristalina ainda não foi determinada.

Por último, procedeu-se à determinação da entalpia de sublimação molar padrão do ácido fumárico. Embora existam valores publicados, estes foram obtidos entre 1934 e 1977 [11,17,18] e apresentam algumas discrepâncias e grandes erros associados, justifica-se então a realização deste estudo no âmbito deste projeto, tendo obtido $\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ(298,15\text{ K})=121 \pm 1,2\text{ kJ. mol}^{-1}$.

Bibliografia

- [1] H.G. Brittain, *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, 2nd ed., Informa Healthcare USA, Inc., New York, 2009.
- [2] J. Bernstein, *Polymorphism in Molecular Crystals*, Oxford University Press, Oxford, 2002.
- [3] CHMP, Norvir, INN-ritonavir, London, 2009.
- [4] J. Bauer, S. Spanton, R. Henry, J. Quick, W. Dziki, W. Porter, J. Morris, Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism, *Pharm. Res.* (2001).
- [5] L.M.N.B.F. Santos, B. Schröder, O.O.P. Fernandes, M.A. V. Ribeiro da Silva, No Ti, *Thermochim. Acta.* (2004) 15–20.
- [6] A. Gavezzotti, *Theoretical Aspects and Computer Modeling of the Molecular Solid State*, John Wiley, Chichester, 1997.
- [7] R.A. Linker, D.-H. Lee, S. Ryan, A.M. van Dam, R. Conrad, P. Bista, W. Zeng, X. Hronowsky, A. Buko, S. Chollate, G. Ellrichmann, W. Brück, K. Dawson, S. Goelz, S. Wiese, R.H. Scannevin, M. Lukashev, R. Gold, S. Josef Hospital, Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway, *A J. Neurol.* (2020).
- [8] S.T. Yang, K. Zhang, B. Zhang, H. Huang, Fumaric Acid, in: *Compr. Biotechnol.*, 3rd ed., Pergamon, 2019: pp. 188–207.
- [9] C.J. Brown, The crystal structure of fumaric acid, in: *Acta Crystallogr., International Union of Crystallography (IUCr)*, London, 1966: pp. 1–5.
- [10] A.L. Bednowitz, B. Post, Direct determination of the crystal structure of β -fumaric acid, in: *Acta Crystallogr., International Union of Crystallography*, Brooklyn, 1966: pp. 566–571.
- [11] W. Acree, J.S. Chickos, Phase Transition Enthalpy Measurements of Organic and Organometallic Compounds. Sublimation, Vaporization and Fusion Enthalpies From 1880 to 2015. Part 1. C1-C10, *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 45 (2016).
- [12] H. P. J., R. M., W. F. W., *Handbook of thermal analysis and calorimetry. Volume 1. Principles and practice (Cap.5)*, 1998th ed., 1998.
- [13] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J. Chem. Phys.* 98 (1998) 5648-5652.
- [14] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Phys. Ver. B.* 37 (1988) 785-789.
- [15] D.E. Woon, T.H.D. Jr., Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. III. The atoms aluminum through argon, *J. Chem. Phys.* 98 (1993)

1358-1371.

- [16] In NIST Standard Reference Database 101 (Release 21), National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, 2020.
- [17] C.G. De Kruif, C.H.D. Van Ginkel, Torsion-weighing effusion vapour-pressure measurements on organic compounds, *J. Chem. Thermodyn.* 9 (1977) 725–730.
- [18] K.L. Wolf, T. H.G., *J. Phys. Chem. B* (1934) 376–380.