

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ

**ESTUDO DE FORMAS POLIMÓRFICAS EM FÁRMACOS A BASE DE
ACETILCISTEÍNA POR MEIO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X**

JANAYNA MARQUES RODRIGUES¹
SAULI SANTOS JUNIOR²

Palavras-chave: cristalização; polimorfismo; fármaco; N-acetilcisteína.

1-Orientanda Janayna Marques Rodrigues – janaynamarquesr@hotmail.com.

2-Prof. Dr. Sauli Santos Junior – saulisantos@pq.cnpq.br.

INTRODUÇÃO

Os princípios ativos farmacêuticos são usualmente ministrados aos pacientes em forma sólida como parte de certa formulação (comprimidos, cápsulas, etc.). Os sólidos fornecem uma forma conveniente, compacta e, geralmente, estável de distribuir produtos farmacêuticos. O entendimento e controle da química dos fármacos em estado sólido, como substâncias puras ou produtos formulados, é uma parte muito importante do processo de desenvolvimento de um novo fármaco. Os compostos farmacêuticos podem apresentar numerosas formas sólidas que incluem os polimorfos, solvatos e hidratos, dessolvatos, co-cristais, sais e amorfos.

Os compostos de interesse farmacológico são largamente utilizados e a grande parte dos fármacos existentes hoje no mercado são sintetizados em laboratório. Estes compostos são utilizados e estudados para fins terapêuticos e de diagnósticos. Durante todo o processo de “construção” de um fármaco, várias etapas são necessárias, e a caracterização de um composto é uma das etapas mais relevantes nesta “engenharia”. As técnicas de química molecular são empregadas para associar compostos e/ou fragmentos orgânicos, inorgânicos e/ou organometálicos para obter a estrutura desejada.

A organização molecular poderá acontecer em escala nanométrica em sistemas ordenados, sendo chamados supramoléculas, que podem ser encontrados com diferentes dimensões: adimensional (dimensão zero), unidimensional, bidimensional e tridimensional.

O estudo e conhecimento das propriedades físicas e químicas destes arranjos podem possibilitar o avanço na “construção” mais precisa de compostos alvos, minimizando e otimizando o tempo de pesquisa e idealizando modelos que poderão ser utilizados para descrever comportamentos observados.

Muitos compostos orgânicos são capazes de adotar uma ou mais formas cristalinas puras, de forma identificável e definida ou uma forma amorfa sem estrutura definida, dependendo das condições (temperatura, solvente, tempo e outras) sob as quais a cristalização é induzida. Essa propriedade pela qual uma única substância pode existir em mais de uma forma cristalina é chamada de polimorfismo.

Em fármacos no estado sólido, o polimorfismo é apresentado quando a solidificação da molécula acontece em diferentes formas no estado cristalino, significa formas de empacotamento cristalino diferentes. Essa mudança na forma do composto pode gerar variações significativas na ação do fármaco no organismo biológico, devido a alterações em suas propriedades físico-químicas.

Formas distintas de um mesmo fármaco podem apresentar curvas de biodisponibilidade/bioequivalência diferentes, variações no ponto de fusão, densidade, mudanças nas propriedades elétricas e ópticas, velocidade de dissolução e variação na estabilidade física e química. Isto é, particularmente preocupante do ponto de vista farmacêutico, uma vez que constituem um fator preponderante na obtenção de matérias-primas para fabricação de medicamentos em forma sólida. A administração de medicamentos por via oral em formulações sólidas é, em geral, a mais conveniente, segura e barata, sendo considerada a mais comum. No entanto, sua eficácia terapêutica está diretamente relacionada às características do fármaco no estado sólido. Tanto a estrutura cristalina (polimorfismo) quanto o hábito cristalino (morfologia).

A existência de polimorfos é uma das principais fontes de variação no comportamento de dissolução dos fármacos, sendo que a influência sobre a velocidade de dissolução é determinada pelas mudanças na solubilidade dos distintos polimorfos.

Os polimorfos podem ser classificados em enantiótopos e monótopos, sendo que os primeiros são reversíveis e podem passar da forma metaestável para a forma estável, porém menos energética. O uso de formas metaestáveis, em geral, resulta em velocidades de dissolução e solubilidade maiores que as formas cristalinas estáveis do mesmo fármaco.

No entanto, o maior problema com o uso de polimorfos metaestáveis para aumentar a dissolução é a conversão da forma mais solúvel e de maior energia para a forma cristalina de menor energia.

Atualmente, o polimorfismo em fármacos é, sem dúvida, uma das linhas de pesquisa mais contempladas da área de ciências farmacêuticas, devido à relevância não apenas econômica, mas, principalmente, farmacológica e toxicológica. Desenvolvimentos científicos que visam à diversidade em termos de números de formas polimórficas disponíveis para um determinado composto são de extrema relevância para a indústria farmacêutica. Em especial, num mercado onde coexistem medicamentos genéricos e similares, os princípios ativos não podem ser observados apenas com uma visão puramente molecular, mas também as mudanças nas propriedades de estado sólido decorrentes da forma cristalina devem ser consideradas para poder garantir a eficácia da terapia por estes medicamentos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA regulamenta a produção de fármacos através de suas formas polimorfas através da resolução RDC. N° 136 de 29 de maio de 2003, solicitando que os fabricantes informem as formas polimorfas dos princípios ativos utilizados nos fármacos.

A N-acetilcisteína (L- α -acetamido- β -ácido-mercaptopropiônico) é um pó cristalino branco, tendo leve odor acético. É facilmente solúvel em água e em álcool; praticamente

insolúvel em clorofórmio e éter. Foi introduzida no mercado na década de sessenta e foi o primeiro agente chamado mucolítico. Consiste em um agente redutor, sendo degradada por agentes oxidantes. No laboratório, é mais eficaz em pH entre 7 e 9, onde é capaz de promover mucólise em poucos minutos.

A acetilcisteína, (R)-2-acetamido-3-ácido mercaptopropanóico, fórmula $C_5H_9NO_3S$ - $163,19 \text{ g.mol}^{-1}$ é um sólido nas condições ambiente (Ponto de Fusão $109,5 \text{ }^\circ\text{C}$). Na molécula de acetilcisteína, salienta-se: grupo acetamido; carboxila; grupo tiol. A acetilcisteína, ou N-acetilcisteína (NAC), é um fármaco utilizado principalmente como agente mucolítico, atua tornando as secreções produzidas nos pulmões mais fluidas, facilitando sua eliminação das vias respiratórias e melhorando a respiração. A molécula de NAC possui um grupo tiol (-SH), ao qual, é atribuído a propriedade de romper as ligações do tipo dissulfeto das mucoproteínas, que conferem viscosidade ao muco das secreções pulmonares.

Grupamentos tióis têm um papel importante em sistemas biológicos. É um grupo facilmente oxidável e este aspecto pode ser ressaltado no aminoácido cisteína. Quando oxidada, a cisteína forma a cistina, transformando o tiol (-SH, forma reduzida) em uma ponte de dissulfeto covalente (-S-S-, forma oxidada), que fornece maior estabilidade e resistência à quebra da proteína que contém o aminoácido. Outra molécula muito importante nos sistemas vivos, crucial em processos redox dos organismos e que possui grupamento -SH, é a glutatona.

Como a difração de raios X é uma técnica que apresenta excelentes resultados para amostras cristalinas, a técnica permite mensurar quantitativamente o polimorfismo e em suas diferentes concentrações, além, de identificar até as pequenas diferenças conformacionais que os compostos apresentam em suas formas polimorfas, a mesma será aplicada neste estudo na realização da análise cristalográfica da N-acetilcisteína, já que não existem relatos na literatura sobre possíveis polimorfos de fármacos cujo princípio ativo consiste na N-acetilcisteína.

OBJETIVOS

- Efetuar a recristalização do fármaco-alvo a partir de compostos farmacêuticos, cujo princípio ativo é N-acetilcisteína, utilizando um dos vários métodos de cristalização;
- Análise por Infravermelho;
- Estudo de algumas características de determinados sistemas do ponto de vista cristalográfico;
- Avaliar a existência de interações intermoleculares e ligações de hidrogênio na formação de arranjos supramoleculares nos complexos e também na identificação de transições de fases cristalográficas;

METODOLOGIA

A primeira etapa consistiu em revisão bibliográfica e escolha do fármaco-alvo a ser analisado. Os fármacos de interesse cujo princípio ativo é a N-acetilcisteína, foram adquiridos em pontos de vendas (farmácias e drogarias), sendo identificados como fármaco 1 do Laboratório A e fármaco 2 produzido pelo Laboratório B. Sucessivamente realizou-se a recristalização do fármaco-alvo, a partir dos dois fármacos comerciais citados anteriormente, através da realização de teste de solubilidade, dissolução dos compostos, evaporação lenta, difusão lenta em diclorometano, além de filtração simples e à vácuo, análise por microscopia óptica e por Infravermelho. A partir deste momento, os compostos recristalizados serão chamados de composto 1 e composto 2 originados dos fármacos 1 e 2, respectivamente.

A partir da diluição do fármaco 1 em etanol, submetida a adição de diclorometano seguido da filtração normal, repouso de 40 minutos em temperatura ambiente e filtração à vácuo obteve-se o composto 1. O composto 2.1 foi obtido a partir da diluição do fármaco 2 em etanol, submetido ao estado de repouso em aproximadamente $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por aproximadamente 40 minutos e filtração à vácuo, os cristais formados foram imersos em diclorometano para conservação. O composto 2.2, obtido através da solução do fármaco 2 diluído em etanol, adição de diclorometano, filtração normal, repouso da amostra em temperatura ambiente por 40 min e filtração à vácuo.

Todas as três amostras apresentaram-se insolúveis em diclorometano, acetona, pouco solúvel em água, bastante solúvel em etanol.

Estes procedimentos foram realizados no Instituto de Química da Universidade Federal Fluminense, em Niterói, sob supervisão da Profa. Maria das Graças Fialho Vaz e do Doutorando Rafael Allão.

A segunda etapa consiste na realização das medidas cristalográficas dos cristais obtidos na recristalização do fármaco a base de N-acetilcisteína, no grupo de pequenas moléculas do Instituto de Física de São Carlos – USP com a colaboração do Prof. Javier Ellena.

RESULTADOS

Obteve-se êxito na recristalização dos compostos 1, 2.1 e 2.2, com formação de cristais sob diferentes formas e dimensões. A análise por Infravermelho confirmou que após análise dos três compostos (1, 2.1 e 2.2), os cristais são de N-acetilcisteína. As medidas cristalográficas das três amostras adquiridas em pontos de vendas comerciais estão em período de análise cristalográfica.

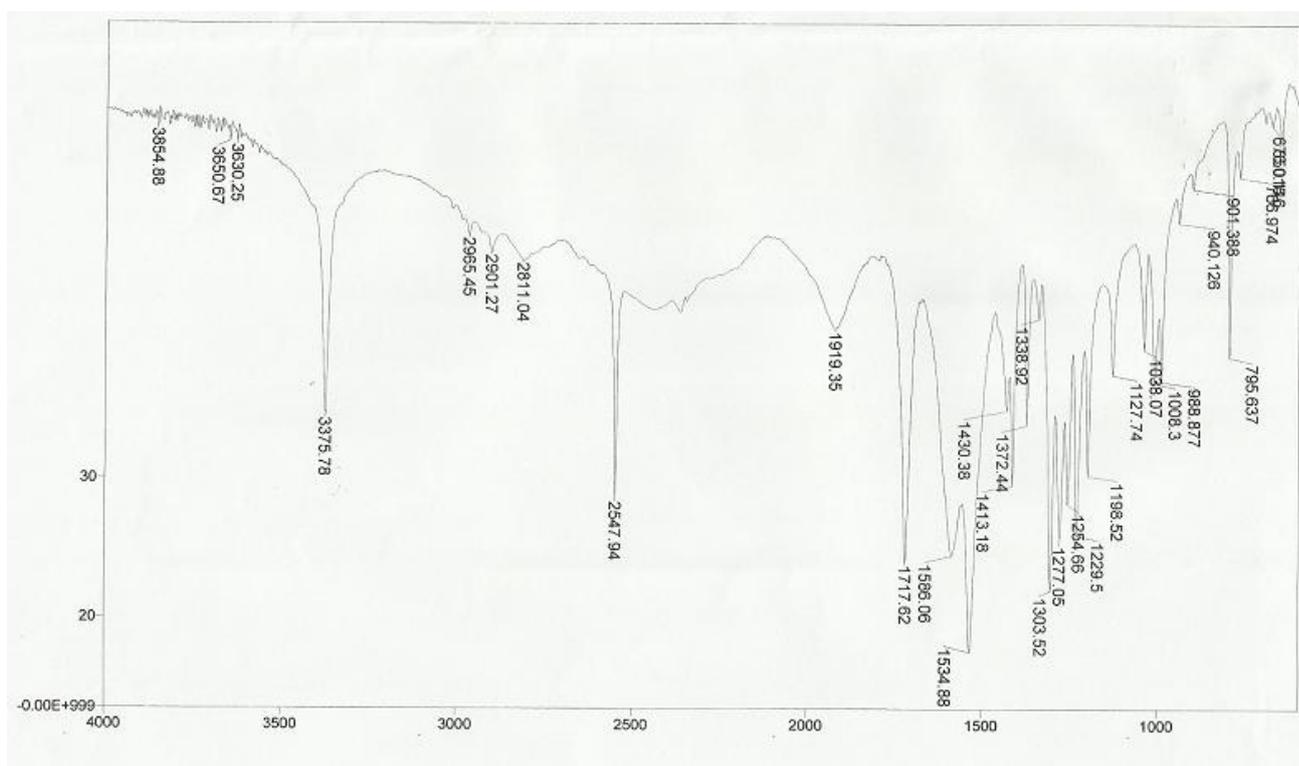


Figura 01- Infravermelho da substância obtida a partir da Recristalização de um dos fármacos comerciais.

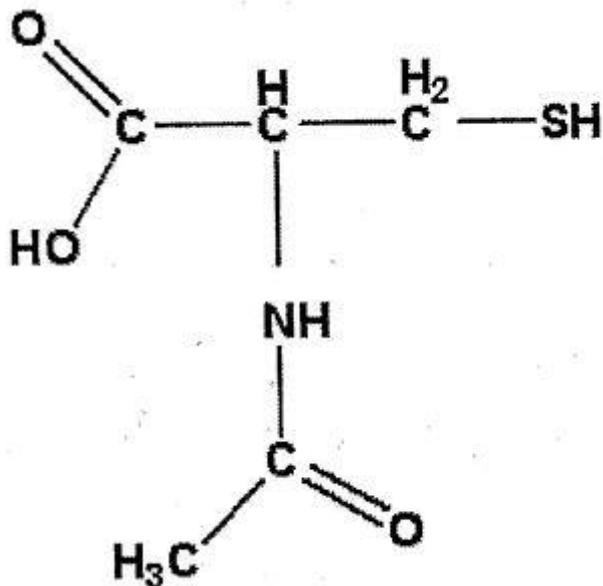


Figura 02- Esquema gráfico da N-acetilcisteína.

DISCUSSÃO

Os compostos apresentaram concordância no processo de cristalização e análise por Infravermelho apresentou resultados como esperado das três amostras. A amostra obtida do composto 1 obteve um maior rendimento, de aproximadamente quatro gramas, os cristais formados apresentaram aspecto bem definido, de tamanho regulares, tipo agulhas, cor branca e com aspecto bem cristalino.

A amostra obtida, composto 2.1, recristalizou em formas bem definidas com cristais de tamanhos apropriados (maiores cristais), em forma de blocos, coloração branca e uma boa quantidade de amostras para as medidas em difração de raios X.

Enquanto que o composto 2.2 foi o que apresentou os menores cristais em forma de pequenas agulhas de coloração branca.

As medidas de infravermelho mostraram que as três amostras eram de N-acetilcisteína e possibilitou as medidas de difração de raios X.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estão sendo analisados (solução e refinamento da estrutura) os dados cristalográficos para identificação de possíveis polimorfos. Até o momento os resultados parciais não mostraram a existência de polimorfismo nas amostras recristalizadas, mas a constatação só poderá ser confirmada após a finalização do processo de solução e refinamento da estrutura cristalográfica, onde será também realizado o estudo de possíveis arranjos supramoleculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASLANOV, L. A., Fetisov, G. V. & Howard, J. A. K. (1998). *Crystallographic Instrumentation*, New York: Oxford University Press.

CASAS, J. S., Castellano, E. E., Ellena, J., Haiduc, I., Sanchez, A., Semeniuc, R. F. & Sordo, J. (2002). *Inorg. Chim. Acta* 329, 71.

FROEHLICH, P.E; Gasparotto, F.S. Mebendazol: identificação das formas polimórficas em diferentes matérias-primas e medicamentos (referência e genéricos) disponíveis no mercado nacional. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 26, n.3, p. 205-210, 2005.

H Aiduc, I. (1997). *Coord. Chem. Reviews*, 158, 325.

Haiduc, I. & Edelmann, F. T. (1999). *Supramolecular Organometallic Chemistry*, Weinheim/New York: Wiley-VCH.

KALISZ, M.; Novak M. A., Basilio, C., Florêncio, A. S., Caneschi, A., Chapuis, G, Vaz, M. G. F. (2007). *Journal Braz. Chem. Soc.*, 18, 916.

KUREGYAN, A. G. (2007). *Pharm. Chem. Soc.*, 41, 502.

LARA, P. F.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Evolução farmacológica dos mucolíticos. Arquivos da Fundação Otorrinolaringologia, 3(2): 68, 1999.

LUBBE, A. S., Bergemann C., Huhnt W., Fricke T., Riess H, Brock J. W. & Huhn D. (1996). Cancer Res., 56, 4694.

MASPOCH, D., Ruiz-Molina, D., Wurst, K., Domingo, N., Cavallini, M., Biscarini, F., Tejada, J., Rovira, C., Veciana, J. (2003). Nature, 2, 190.

MEDICINANET. Disponível: www.medicinanet.com.br/, acessado em 05/06/2011.

MILLER, J. S. (2006). Dalton Trans., 23, 2742.

NAKATAMI, K., Carriat, J. Y., Journaux, Y., Kahn, O., Lloret, F., Renard, J. P., PEI, Y., Sletten, J., Verdaguer, V. (1989). J. Am. Chem. Soc., 111, 5739.

PEREIRA, C. L. M., Pedroso, E. F., Stumpf, H. O., Novak, M. A., Ricard, L., Ruiz-Garcia, R., Rivière, E., Journaux, Y. (2004). Angew. Chem. Int. Ed., 43, 956.

QUÍMICA NOVA INTEGRATIVA - Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: www.qnint.sbq.org.br/, acessado 07/06/2011.