

**ESTUDO DO POLIMORFISMO DO HANSENOSTÁTICO DAPSONA**Wallesson Adriano Pinto dos Santos<sup>1</sup>, Luis Henrique Silva Queiroz<sup>2</sup>, Paulo Roberto da Silva Ribeiro<sup>3</sup>

1. Estudante de IC – Curso de Engenharia de Alimentos – CCSST – UFMA – Imperatriz, MA.
2. Estudante de Pós-Graduação – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais – CCSST – UFMA – Imperatriz, MA.
3. Professor / Orientador – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais – CCSST – UFMA – Imperatriz, MA. \*pauloufma@ufma.br

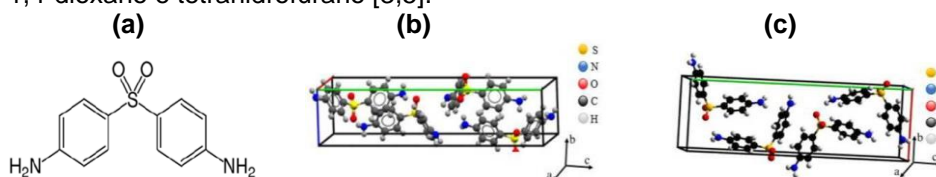
**Resumo:** A Dapsona (DAP) é um material utilizado no tratamento da hanseníase. Ela apresenta quatro formas polimórficas (I a IV), sendo que estas possuem diferentes propriedades termodinâmicas, podendo afetar a sua eficácia terapêutica. Este trabalho objetivou a investigação do polimorfismo da DAP a partir de diferentes metodologias de recristalização: Método da Suspensão e Evaporação Lenta de Solvente. Posteriormente, os materiais obtidos foram caracterizados por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP) e por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os resultados DRXP mostraram que a DAP<sub>comercial</sub> e a DAP<sub>ELS1</sub> apresentaram-se na Forma III e que a DAP<sub>MS</sub>, DAP<sub>ELS2</sub> e DAP<sub>ELS3</sub> apresentaram-se como uma mistura das Formas II e III. As curvas DSC mostraram a ocorrência de transição da Forma III para a Forma II em 81°C e também evento de fusão em 177°C. Assim, este trabalho mostrou que o tipo de metodologia de recristalização e o solvente utilizado favorecem a ocorrência de polimorfismo da DAP.

**Palavras-chave:** Hanseníase; Formas polimórficas; 4-(4-aminofenil) sulfonilânina.

**Apoio financeiro:** Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Introdução**

O polimorfismo de um composto consiste na sua tendência de se cristalizar em diferentes formas ou estados cristalinos, sendo que estas formas sólidas são chamadas de polimorfos [1]. Essa mudança na forma do composto pode gerar variações significativas nas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e terapêuticas do fármaco [2]. A Dapsona (DAP), conhecida quimicamente como 4-(4-aminofenil)sulfonilânina (Figura 1a), é um antibiótico utilizado no tratamento da hanseníase [3,4]. A DAP apresenta polimorfismo e pode ser encontrada em quatro formas polimórficas (Formas I a IV) [2]. As Formas I, II (Figura 1b) e IV possuem pontos de fusão de 179; 177 e 170 °C, respectivamente. Enquanto que a Forma III (Figura 1c) é a mais estável à temperatura ambiente, entretanto, ela sofre transição de fase sólido-sólido em 80°C e passa para a Forma II. Também foram relatados quatro pseudo-polimorfos da DAP sendo um hidrato e três solvatos com diclorometano, 1,4-dioxano e tetrahidrofurano [3,5].



**Figura 1** – Estrutura química da DAP (a) [6]; Células unitárias das Formas II (b) e III (c) da DAP [3,7].

Assim, é de suma importância a investigação da forma polimórfica em que a DAP se apresenta nas matérias-primas utilizadas na produção de medicamentos, bem como a influência da metodologia de recristalização na formação das formas polimórficas deste fármaco, visto que a forma em que ela se encontra, pode influenciar na sua eficácia terapêutica. Portanto, este trabalho objetivou a investigação da ocorrência do polimorfismo da DAP a partir de diferentes metodologias de recristalização.

**Metodologia****Obtenção da amostra comercial de dapsona investigada neste estudo**

A amostra de DAP foi obtida junto à SIGMA-ALDRICH (97% de pureza).

**Investigação pelo Método da Suspensão (MS)**

Pesaram-se 150 mg de DAP, transferiu-se esta massa para um béquer e adicionaram-se 20 mL de etanol para a solubilização do fármaco. Colocou-se a solução sob agitação (150 rpm), à 50 °C, até a evaporação do solvente (90 min). Em seguida, o material foi deixado em uma estufa com circulação forçada de

ar, à 50°C por 2h para a eliminação de possíveis resíduos do solvente. Posteriormente, o material obtido (DAP<sub>MS</sub>) foi levado para caracterização.

### Investigação por Evaporação Lenta de Solvente (ELS)

#### Método ELS 1: 8 °C em Etanol:Água (4:1)

Pesaram-se 150 mg de DAP, transferiu-se esta massa para um béquer e adicionaram-se 16 mL de etanol e 4 mL de água. Após a solubilização do fármaco, o béquer foi fechado com papel filme, onde foram feitos pequenos furos aleatórios e a solução foi deixada em repouso à 8°C até a evaporação do solvente (cerca de 30 dias). Em seguida, o material resultante foi deixado em uma estufa com circulação forçada de ar, à 50°C por 2h para a eliminação de possíveis resíduos do solvente. Posteriormente, o material obtido (DAP<sub>ELS1</sub>) foi levado para caracterização.

#### Métodos ELS 2 e 3: 8 °C e 40 °C, respectivamente, em Metanol:Acetato de etila (1:1)

Pesaram-se 120 mg de DAP, transferiu-se esta massa para um béquer e adicionaram-se 60 mL de metanol e 60 mL de acetato de etila. Após a solubilização do fármaco, o béquer foi fechado com papel filme, onde foram feitos pequenos furos aleatórios e a solução foi deixada em repouso à 8°C (Método ELS 2) e à 40 °C (Método ELS 3) até a evaporação do solvente (cerca de 20 dias). Em seguida, os materiais resultantes foram deixados em uma estufa com circulação forçada de ar, à 50°C por 2h para a eliminação de possíveis resíduos do solvente. Posteriormente, os materiais obtidos (DAP<sub>ELS2</sub> e DAP<sub>ELS3</sub>) foram levados para caracterização.

### Caracterização das amostras de Dapsona (DAP)

#### Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP)

As amostras obtidas neste trabalho foram caracterizadas por DRXP. Para tanto, utilizou-se o Difrátometro de Raios X da marca Rigaku, modelo Miniflex II, com radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5418$  Å) operando a temperatura ambiente com padrões de difração de 5° a 45° (2 $\theta$ ). Os difratogramas foram submetidos ao Refinamento de Rietveld, tendo como base os dados reportados no Banco de Dados Cristalográficos CCDC ConQuest, em sua versão 5.36, da Cambridge Structural Database System.

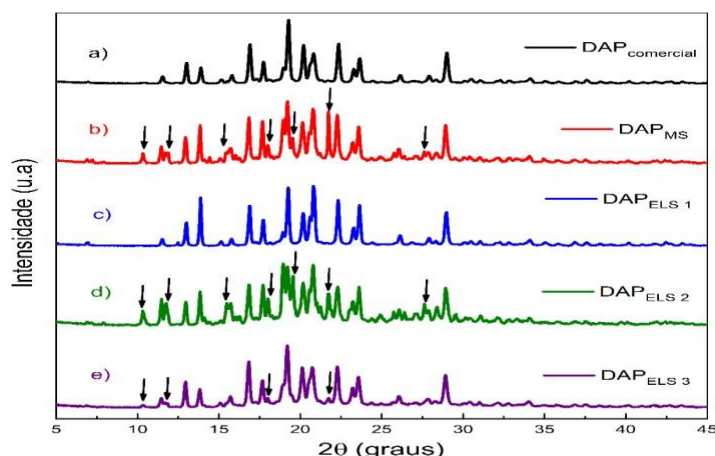
#### Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC das amostras foram obtidas em um Analisador Térmico da marca Shimadzu Instruments, modelo DSC-60, utilizando-se cadinhos abertos de alumínio, contendo aproximadamente 2 mg de amostra, com ciclos únicos de aquecimento na faixa de temperatura de 25 a 260 °C, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) e taxa de aquecimento de 10°C/min. Um cadinho aberto de alumínio e vazio foi utilizado como referência.

## Resultados e Discussão

### Caracterização por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP)

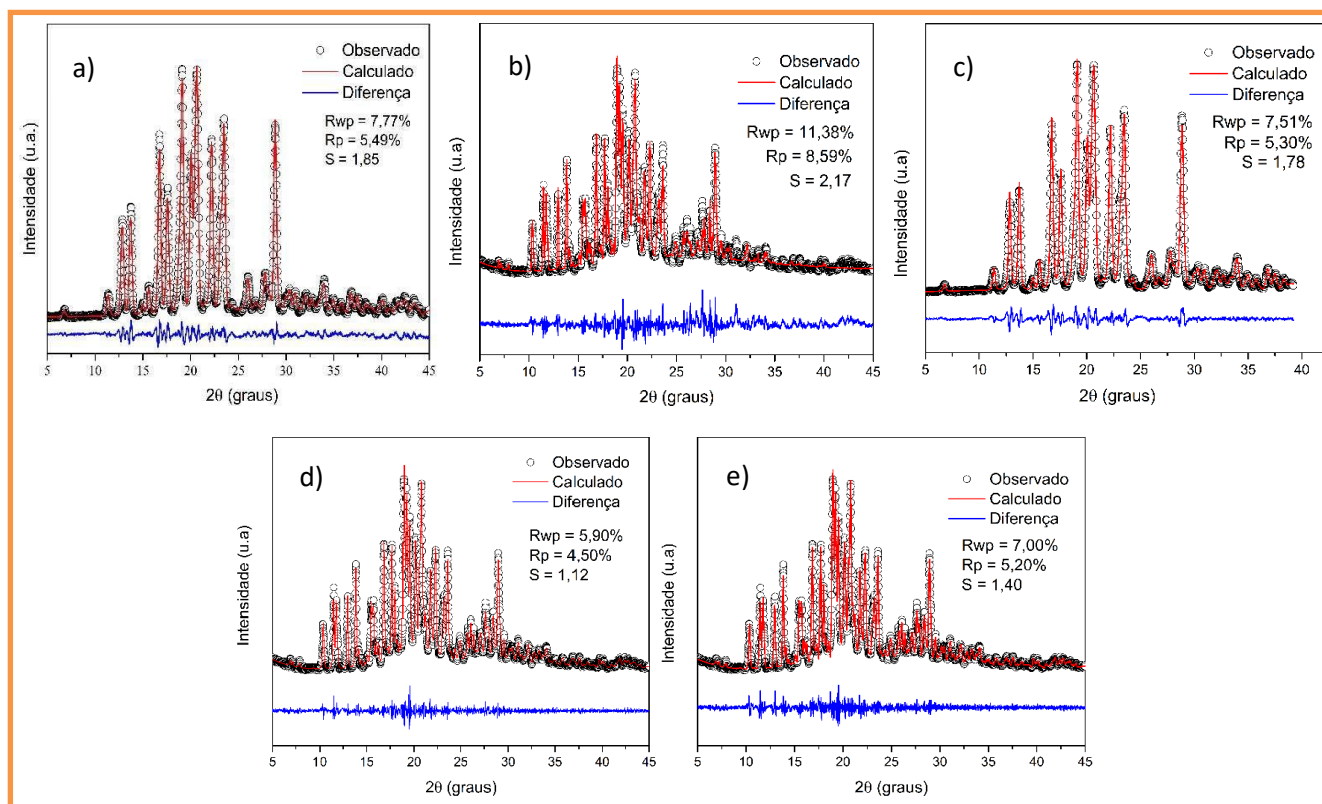
As Figuras 2 (a – e) apresentam os padrões de difração por DRXP da amostra de DAP obtidas junto ao fabricante (DAP<sub>comercial</sub>) e das amostras de DAP recristalizadas por MS (DAP<sub>MS</sub>) e por ELS 1, 2 e 3 (DAP<sub>ELS1</sub>, DAP<sub>ELS2</sub> e DAP<sub>ELS3</sub>). Enquanto que as Figuras 3 (a – e) apresentam estes padrões de difração submetidos ao Método de Refinamento de Rietveld para a confirmação da(s) forma(s) polimórfica(s) das amostras de DAP analisadas.



**Figura 2** – Padrões de Difração das amostras investigadas neste estudo: a) DAP<sub>comercial</sub>, b) DAP<sub>MS</sub>, c) DAP<sub>ELS 1</sub>, d) DAP<sub>ELS 2</sub> e e) DAP<sub>ELS 3</sub>.

Com o intuito de confirmar a(s) forma(s) polimórfica(s) apresentada(s) pela DAP, antes e após de cada

processo de recristalização, os difratogramas correspondentes foram submetidos ao refinamento pelo Método de Rietveld. Os parâmetros do refinamento mostraram a boa concordância entre as intensidades observadas e aquelas calculadas, pois os valores de  $R_{wp}$ ,  $R_p$  e  $S$  encontraram entre 5,90 a 11,38%; 4,50 a 8,59% e 1,12 a 2,17, respectivamente, conforme recomendado por Mccusker et al. [8]. Assim, foi possível verificar que a  $DAP_{comercial}$  se encontra na Forma III. Esta forma é considerada a mais estável, possui estrutura cristalina referente ao sistema ortorrômbico, apresentando quatro moléculas por célula unitária e grupo espacial  $P2_12_12_1$ , com parâmetros de rede  $a = 8,057(2)$  Å,  $b = 25,554(6)$  Å e  $c = 5,756(2)$  Å.

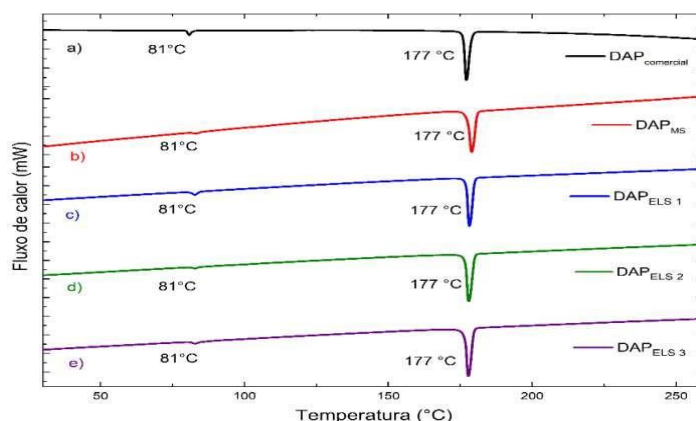


**Figura 3** – Padrões de Difração, submetidos ao Método de Refinamento de Rietveld, das amostras investigadas neste estudo: a)  $DAP_{comercial}$ , b)  $DAP_{MS}$ , c)  $DAP_{ELS 1}$ , d)  $DAP_{ELS 2}$  e e)  $DAP_{ELS 3}$

Quando a  $DAP_{comercial}$  foi submetida aos processos de recristalização MS,  $ELS_2$  e  $ELS_3$ , observou-se que uma porção da Forma III transitou-se para a Forma II, cujos picos difratográficos estão indicados pelas setas, resultando na obtenção de materiais formados por misturas destas fases (Forma II: 20% e III: 80%). A Forma II também pertence ao grupo espacial  $P2_12_12_1$ , ortorrômbico, com quatro moléculas por célula unitária e exibindo volume de célula menor que a Forma III e com valores dos parâmetros de rede iguais  $a = 7,998(1)$  Å,  $b = 25,174(2)$  Å e  $c = 5,878(1)$  Å [3]. Entretanto, quando a  $DAP_{comercial}$  foi submetida ao processo de recristalização  $ELS_1$ , ela permaneceu na Forma III.

### Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As Figuras 4 (a – e) apresentam as curvas DSC das amostras de DAP obtidas junto ao fabricante ( $DAP_{comercial}$ ) e das amostras de DAP recristalizadas por MS e por  $ELS 1, 2$  e  $3$ .



**Figura 4** – Curvas DSC para a)  $DAP_{comercial}$ , b)  $DAP_{MS}$ , c)  $DAP_{ELS 1}$ , d)  $DAP_{ELS 2}$  e e)  $DAP_{ELS 3}$

A partir da análise das curvas DSC para cada amostra de DAP, observou-se a ocorrência de 2 eventos endotérmicos. O primeiro, que se inicia em 81°C ( $T_{\text{onset}}$ ), é referente a transição de fase sólido-sólido onde a Forma III transita para a Forma II. O segundo evento ocorre em 177°C ( $T_{\text{onset}}$ ), refere-se ao evento de fusão desta forma de DAP [3]. Além disso, notou-se que a magnitude dos eventos de transição de fase da DAP<sub>comercial</sub> (Figura 4a) e DAP<sub>ELS 1</sub> (Figura 4c) são maiores, uma vez que se encontram apenas na forma III, dificultando, assim, a transição para a forma II, ocorrendo com um maior calor de formação (~4400 J/mol). As demais amostras (Figuras 4b-d-e) se encontram com as fases II e III misturadas, ocorrendo uma menor magnitude nos eventos de transição para a fase II, cujo calor de formação também é menor (~990 J/mol).

## Conclusões

O estudo do polimorfismo de fármacos é de suma importância para a garantia da eficácia terapêutica destes compostos, pois a ocorrência deste fenômeno pode resultar na alteração de suas propriedades, comprometendo o tratamento de doenças. Como a dapsona é um fármaco que apresenta diferentes formas polimórficas, é de suma importância a investigação da ocorrência do polimorfismo neste fármaco.

Neste sentido, a análise por DRXP indicou que a DAP comercial encontra-se na Forma III e permanece nesta forma após ser submetida ao processo de evaporação lenta de solvente a 8°C, utilizando etanol e água como solventes. Entretanto, quando a DAP é submetida ao método da suspensão (MS) e à evaporação lenta de solvente à 8 °C e à 40 °C em Metanol:Acetato de etila (1:1), observou-se a formação de um material formado por uma mistura de fases cristalinas (Formas II e III). Estes resultados foram confirmados pelos refinamentos de Rietveld, que apresentaram parâmetros satisfatórios. As curvas DSC de todas as amostras mostraram a ocorrência da transição de fases sólido-sólido (Forma III para a Forma II) em 81°C e a fusão da DAP na Forma II em 177°C.

O tipo de metodologia de recristalização e o tipo de solvente utilizado favorecem a ocorrência de polimorfismo da DAP. Além disso, foi possível observar que a DAP comercializada encontra-se na sua forma polimórfica mais estável e mais adequada para a produção de medicamentos.

## Referências bibliográficas

- [1] GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. **Thermochimica Acta**, v. 248, n. 2, p. 1-59, 1995.
- [2] MORRIS, K. R.; GRIESSER, U. J.; ECKHARDT, G. J.; STOWELL, J. G. Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 91-114, 2001.
- [3] BRAUN, D. E.; KRÜGER, H.; KAHLENBERG, V.; GRIESSER, U. J. Molecular Level Understanding of the Reversible Phase Transformation between Forms III and II of Dapsone. **Crystal Growth & Design**, v. 17, n. 10, p. 5054-5060, 2017.
- [4] LEMMER, H.; STIEGER, N.; LIEBENBERG, W.; CAIRA, M. R. Solvatomorphism of the antibacterial dapsona: x-ray structures and thermal desolvation kinetics. **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 3, p. 1683-1692, 2012.
- [5] BARR, J. A short history of dapsona, or an alternative model of drug development. **Journal of the History of Medicine and Allied Sciences**, v. 66, n. 4, p. 425-467, 2010.
- [6] PHARMACOPOEIA, B. British Pharmacopoeia Commission Seceterial of the Medicine and Healthcare product Regulatory Agency. **The Stationary Office (TSO)**, UK, 2011.
- [7] SU, G.; FENG, P. Crystal structure and NLO properties of 4, 4'-diaminodiphenylsulfone (DAPS). **Jiegou Huaxue**, v.11: p. 293-296, 1992.
- [8] MCCUSKER, L.; VON DREELE, R.; COX, D.; LOUER, D.; SCARDI, P. Rietveld refinement guidelines. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, n. 1, p. 36-50, 1999.