

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ESTUDO TERMOANALÍTICO DO HANSENOSTÁTICO CLOFAZIMINA

Ayslla Campos Moura¹, Luís Henrique Silva Queiroz², Paulo Roberto da Silva Ribeiro^{3*}

1. Estudante de IC – Curso de Engenharia de Alimentos – NUPFARQ – CCSST – UFMA – Imperatriz, MA.
2. Estudante de Mestrado – NUPFARQ – PPGCM – CCSST – UFMA – Imperatriz, MA.
3. Professor/Orientador – NUPFARQ – PPGCM – CCSST – UFMA – Imperatriz, MA. *pauloufma@ufma.br

Resumo: A Clofazimina (CFZ) é um antimicrobiano oral utilizado no tratamento da hanseníase. A CFZ apresenta polimorfismo, pode ser encontrada nas Formas I, II, III e IV cujas propriedades diferenciam entre si. Este estudo objetivou a caracterização estrutural e termooanalítico deste fármaco, visando determinar sua forma polimórfica. Para tanto, a amostra de CFZ foi analisada por Difração de Raio X pelo Método do Pó (DRXP), Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). O resultado por DRXP mostrou que a CFZ se encontra da Forma I. As curvas DTA e DSC desta forma polimórfica apresentaram um evento de fusão em 218,21°C e 222,40°C, respectivamente. As curvas TG e DTG mostraram que ele apresenta boa estabilidade térmica em 295,28°C. Portanto, este estudo mostrou que a CFZ investigada apresenta-se na forma polimórfica termodinamicamente mais estável podendo ser utilizada na produção de medicamentos.

Palavras-chave: Controle de Qualidade; Fármaco; Polimorfo;

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

A clofazimina (CFZ) é um antibacteriano da classe das riminofenazinas utilizada no tratamento da hanseníase, conforme recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS)¹. A CFZ, conhecida quimicamente como N,5-Bis(4-clorofenil)-3,5-diidro-3-[(1-metiletil)imino]-2- fenazinamina, possui fórmula molecular $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ (Figura 1a), peso molecular 473,40 g/mol e faixa de fusão 217 – 219 °C. Ela possui coloração vermelha² e apresenta polimorfismo, podendo ser encontrada nas Formas I, II, III e IV (Figuras 1b – e).

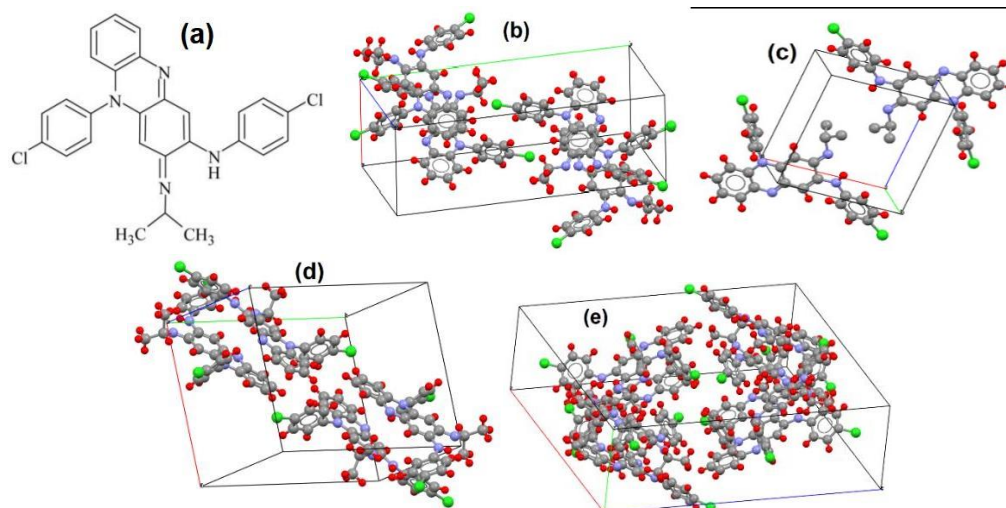


Figura 1 – (a) Estrutura química da CFZ²; Células Unitárias das formas polimórficas da CFZ: **(b)** Forma I; **(c)** Forma II; **(d)** Forma III; **(e)** Forma IV. ^{3, 4}

Os fármacos podem apresentar a capacidade de se cristalizar em estruturas cristalinas diferentes, este fenômeno é denominado polimorfismo. Como consequência, muitas das propriedades importantes destes fármacos podem ser afetadas, tais como a velocidade de dissolução, a densidade aparente e a verdadeira, a morfologia do cristal, a compactação e o escoamento do pó, além das estabilidades química e física. Assim, é importante considerar a ocorrência do polimorfismo em fármacos na etapa do controle de qualidade de medicamentos⁵. Diante disso, este trabalho objetivou a caracterização estrutural e o estudo termooanalítico da CFZ utilizando a Difração de Raio X pelo Método do Pó (DRXP), a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a Termogravimetria/Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA).

Metodologia

Obtenção da amostra de Clofazimina (CFZ) investigada neste estudo: A amostra de Clofazimina (CFZ_{comercial}) analisada neste estudo foi obtida junto à Sigma Aldrich com grau de pureza de 98,0%.

Caracterização por Difração de Raios X Pelo Método do Pó (DRXP): É uma técnica de análise não-destrutiva utilizada para analisar estruturas cristalinas. Ela permite a quantificação dos espaçamentos entre planos cristalinos através da medida da intensidade espalhada em relação aos ângulos que indicam as direções de espalhamento e interferência sofridas pelos Raios X⁶. A amostra foi analisada em um Difratorômetro marca Rigaku, modelo MiniFlex II, com radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando com tensão de 40 kV e corrente de 30 mA, à temperatura ambiente (25 °C). Os padrões de difração foram coletados no intervalo de 5° a 45° (2 θ), utilizando um passo angular de 0,02° e com tempo de contagem de 2 segundos de aquisição por passo. Posteriormente, o difratograma obtido foi submetido ao Método de Refinamento de Rietveld para a confirmação da fase sólida da amostra investigada, pois este método matemático permite o ajuste de perfil do difratograma com um padrão⁷.

Caracterização por Termogravimetria/Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA): A TG mede a variação de massa em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. A DTG é um arranjo matemático, onde a derivada da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo. A DTA determina a diferença entre as temperaturas da amostra e de um material de referência termicamente inerte, à medida que ambos vão sendo aquecidos em um forno⁸. As curvas foram obtidas em um analisador térmico da marca Shimadzu Instruments, modelo DTG-60 com balança do tipo Top plan de guia diferencial paralela. Os ciclos únicos de aquecimento foram realizados de acordo com a estabilidade térmica do composto, sob atmosfera dinâmica de ar seco com vazão de 50 mL/min e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. O cadinho para a amostra foi de alfa-alumina e a massa de amostra usada foi de 6,15 mg.

Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC): É uma técnica que a diferença de entradas de energia numa substância e o material de referência é medida como uma função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são controlados por temperatura⁹. Neste estudo, as curvas foram obtidas em um analisador térmico da marca Shimadzu Instruments DSC-60. Para tanto, ciclos únicos de aquecimentos foram realizados na faixa de temperatura de acordo com a estabilidade térmica de cada composto, sob atmosfera dinâmica de ar seco e com vazão de 50 mL min⁻¹. A taxa de aquecimento de equilíbrio programada foi de 5 °C min⁻¹. Utilizou-se um cadinho de alumínio com tampa prensada como suporte para a amostra cuja massa usada foi de 2,00 mg e, como referência, usou-se um cadinho similar, porém vazio.

Resultados e Discussão

Difração de Raios X Pelo Método do Pó (DRXP)

Na Figura 2 (a) é apresentado o difratograma da CFZ e a Figura 2 (b) mostra o seu respectivo refinamento pelo método de Rietveld, utilizando a informação cristalográfica do arquivo DAKXUI01. A partir dos resultados obtidos, observou-se que este fármaco encontra-se na Forma I. O refinamento apresentou boa precisão e exatidão, pois os seus parâmetros (R_{wp} , R_p e S) apresentaram-se dentro das especificações recomendadas por Mccusker (1999)¹⁰. Esta forma polimórfica possui estrutura cristalina triclinica, sendo termodinamicamente mais estável e comumente utilizada para preparação de medicamentos¹¹. Os seus parâmetros de rede são: $a = 10,507 \text{ \AA}$, $b = 12,852 \text{ \AA}$, $c = 9,601 \text{ \AA}$, $\alpha = 95,96^\circ$, $\beta = 97,22^\circ$, $\gamma = 82,78^\circ$, $V = 1.204,012 \text{ \AA}^3$, grupo espacial $P1$ e densidade = 1,306 g/m⁻³, conforme relatado por Rychlewka (1985)³.

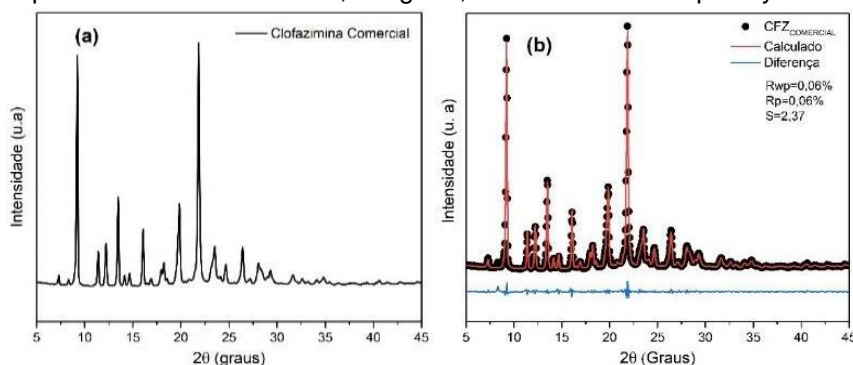


Figura 2 - Padrão de difração de Raios X da amostra de CFZ (a) e seu respectivo refinamento obtido pelo Método de Rietveld (b).

Termogravimetria/Termogravimetria Derivada e Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG/DTG-DTA)

As curvas TG e DTG (Figura 3) mostram três eventos de perda de massa, cujos parâmetros estão

descritos na Tabela 1. Na curva de DTG foi possível determinar três eventos de variação de massa, apresentados na Tabela 1. Segundo He et al. (2007)¹² o primeiro evento refere-se à perda de amônia proveniente do grupo imino, enquanto que os eventos II e III referem-se à decomposição da porção fenazínica da CFZ.

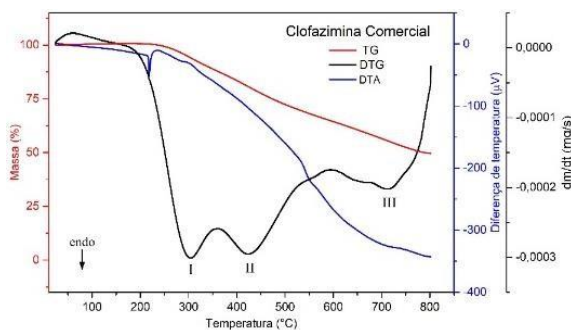


Figura 3 – Curvas Tg/DTG-DTA da amostra de CFZ.

Tabela 1 - Eventos de perda de massa obtidos a partir das curvas de TG e DTG da CFZ.

Amostra	Eventos	Faixa de Temperatura (°C)	Δm		Resíduo (%)
			mg	%	
CFZ	I	169,60 - 361,25	0,394	13,068	86,932
	II	362,13 - 545,41	0,576	19,104	80,896
	III	549,38 - 799,18	0,561	18,607	81,393

Como mostrado na Figura 3, a curva DTA da amostra de CFZ apresentou um evento endotérmico em 216,94 °C (T_{onset}) referente à fusão da sua Forma I. Os demais eventos referem-se às etapas de decomposição da CFZ, como mostrado nas curvas TG e DTG.

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A curva DSC da CFZ_{comercial} (Figura 4), obtida na faixa de 25°C a 250°C, apresentou um evento endotérmico em 221,35 °C (T_{onset}). Este evento equivale à fusão da Forma I da amostra, conforme mostrado na curva DTA.

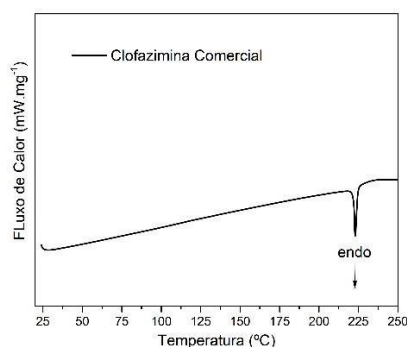


Figura 4 – Curva DSC da amostra CFZ analisada neste trabalho.

Conclusões

O polimorfismo influencia nas propriedades dos fármacos, tais como a sua solubilidade e a sua estabilidade. Este fenômeno também pode influenciar na eficácia terapêutica do princípio ativo. Assim, a partir dos resultados obtidos neste trabalho observou-se que a amostra de clofazimina investigada apresentou-se na Forma I, cujo evento de fusão ocorreu entre 216,93 °C e 222,05°C e com boa estabilidade térmica. Dessa forma, de acordo com as análises realizadas, a CFZ apresenta-se na forma polimórfica mais estável e mais adequada para o uso na produção de medicamentos.

Referências bibliográficas

[1] CHOLO, M. C.; STEEL H. C.; FOURIE, P. B.; GERMISHUIZEN, W. A.; ANDERSON, R. Clofazimine: current status and future prospects. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 67, p. 290-298, 2012.

[2] BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira: Volume 2 – Monografias**. 5 ed. Brasília: Anvisa, 2010. 795-796 p.

[3] RYCHLEWSKA, U.; BROOM, M. B. H.; EGGLESTON, D. S.; HODGSON, D. J. Antileprosy Dihydrophenazines. Structural Characterization of two crystal forms of clofazimine and of isoclofazimine, B

3857. *Revista da American Chemical Society*. v. 107, p. 4768-4772, 1985.

[4] BANNIGAN, P.; ZEGLINSKI J.; LUSI, M.; O'BRIEN, J.; HUDSON, S. P. Investigation into the Solid and Solution Properties of Known and Novel Polymorphs of the Antimicrobial Molecule Clofazimine. **Crystal Growth & Design**. v. 16, p. 7240-7250, 2016.

[5] ARAÚJO, G. L. B; JÚNIOR, A. P; ANTONIO, S. G; SANTOS, C. O. P; MATOS, J. R; Polimorfismo na produção de medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 1, p. 27-36, 2012.

[6] CARDOSO, J. J. B. **Estudo Do Inchamento De Bentonitas Sódicas E Avaliação Do Desempenho De Inibidores Pela Difração de Raios X**. 2005. 106 p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

[7] RICHARDSON, J. W. J. Background Modelling In Rietveld Analysis. **Argonne National Laboratory**. v.1, p. 01-15, 1989.

[8] DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Princípios e Aplicações de Análise Térmica** - São Paulo. USP. 2012. 4-6 p.

[9] DOOREN, A. A.; MULLER, V.; DUPHAR, B. W.; PURITY A. B. V. Determinations of Drugs With Differential Scanning Calorimetry (DSC). **International Journal Pharmaceutics**. v. 20, p. 217-233, 1984.

[10] MCCUSKER, L.; DREELE, R. B. V.; COX, D. E.; LOUER, D.; SCARDI, P. Rietveld refinement guidelines. **Journal of Applied Crystallography**. v. 32, n. 1, p. 36-50, 1999.

[11] SOUSA, M. L.; **Obtenção e caracterização de novas dispersões sólidas do hansenostático clofazimina**. 2018. 139 p. Tese (mestrado) – Universidade Federal do Maranhão.

[12] HE, D.; WU, Y.; XU, B. Q. Formation of 2,3-diaminophenazines and their self-assembly into nanobelts in aqueous medium. **European Polymers Journal**, v. 43, n. 9, p. 3703-3709, 2007.