

Título em Português:	Caracterização e avaliação das propriedades farmacocinéticas de novas formas sólidas cristalinas de fármacos antivirais
Título em Inglês:	Characterization and evaluation of the pharmacokinetic properties of new solid crystalline forms of antiviral drugs
Autor:	Rubens Antonio Alves Rosa
Instituição:	Universidade de São Paulo
Unidade:	Instituto de Física de São Carlos
Orientador:	Javier Alcides Ellena
Área de Pesquisa / SubÁrea:	Física da Matéria Condensada
Agência Financiadora:	USP - Programa Unificado de Bolsas



Caracterização e avaliação das propriedades farmacocinéticas de novas formas sólidas cristalinas de fármacos antivirais

Rubens Antonio Alves Rosa

Paulo Nunes de Souza

Prof. Dr. Javier Alcides Ellena

Universidade de São Paulo

rubensa2003@usp.br

Objetivos

Este projeto foca na síntese e caracterização de novas formas sólidas do antiviral Aciclovir (ACV) através da formação do sal utilizando o ácido bromídrico. Baseado nas estratégias de Engenharia de Cristais, busca-se modular propriedades físico-químicas e farmacocinéticas, como solubilidade e permeabilidade, para melhorar a biodisponibilidade do fármaco. As formas sólidas obtidas são analisadas por difração de raios X (monocristal e pó) e análises térmicas, a fim de correlacionar a estrutura cristalina com o desempenho farmacêutico.

Métodos e Procedimentos

A síntese do sal de bromidrato de aciclovir (HACV·Br) foi realizada adicionando 200 µL de uma solução de concentração conhecida de ácido bromídrico em uma suspensão de ACV em solvente. Como resultado do experimento foram obtidas duas formas tautoméricas do sal HACV·Br, uma presente no grupo espacial P-1 e outra no grupo espacial Cc. A forma Cc foi obtida separadamente utilizando variação de temperatura, obtida a -4°C em geladeira, porém, inicialmente, a forma P-1 foi obtida apenas em conjunto com a forma Cc. Foram testados diferentes solventes e misturas

(metanol, etanol, isopropanol, água e acetonitrila) para modular a polaridade do meio e obter as formas cristalinas separadamente. O protocolo padrão envolveu a dissolução de 67,5 mg de ACV em 3 mL de etanol a 60°C, seguida pela adição gota a gota de 600 µL de ácido bromídrico (HBr) sob agitação. A caracterização estrutural foi conduzida por difração de raios X de pó para identificação de fases e por difração de raios X de monocristal para a elucidação detalhada da estrutura atômica.

Resultados

A análise de Difração de raios-x de monocristal revelou duas formas cristalinas do bromidrato de aciclovir: Uma no sistema triclinico e no grupo espacial P-1. E a outra no sistema monoclinico e no grupo espacial Cc. A diferença fundamental entre essas formas é a sua mudança na região de protonação na molécula de aciclovir, no anel da imidazol (Forma P-1) e no anel da pirimidina (Forma Cc), conforme mostrado na Figura 1. A forma P-1 é estabilizada por interações iônicas HACV⁺...Br⁻, ligações de hidrogênio e interações do tipo π...π. A obtenção seletiva das fases foi investigada através da variação da polaridade do solvente em diversos experimentos. Verificou-se que a mistura

metanol/água (1:1) favoreceu a formação de uma fase hidratada do fármaco em detrimento do sal desejado, enquanto a mistura com acetonitrila se mostrou ineficaz para cristalizar a forma P-1 por não estabilizar as interações iônicas necessárias. Da mesma forma, as misturas de metanol/isopropanol com baixas concentrações de metanol (proporções 1:9, 2:8 e 3:7) não produziram a fase de interesse. Contudo, a proporção de 4:6 (metanol/isopropanol) resultou na formação da fase P-1, embora de forma concomitante com a forma hidratada do aciclovir. Este resultado indica que a polaridade do meio é adequada, mas a quantidade de ácido precisará ser ajustada em experimentos futuros para favorecer a formação exclusiva do sal.

	HACV·Br (P-1)	HACV·Br (Cc)
Fórmula Química	C ₈ H ₁₃ N ₅ O ₃ Br	C ₈ H ₁₃ N ₅ O ₃ Br
Sistema Cristalino	Triclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	P-1	Cc
a (Å)	6.73110(10)	5.40540(10)
b (Å)	8.73110(10)	29.8930(3)
c (Å)	8.65620(10)	7.12770(10)
α (°)	91.6700(10)	90
β (°)	106.1760(10)	107.614(2)
γ (°)	98.6080(10)	90
Volume (Å ³)	569.329(16)	1097.96(3)
Z	2	4
Radição	Mo Kα (λ = 0.71073)	Cu Kα (λ = 1.54184)
Correção por Absorção	Análítica	Gaussiana
Max./min. Transmissão	1.000/0.466	0.859/0.579
Goodness of fit (S)	1.056	1.051
Índices de Discordância [I ≥ 2σ(I)]	R ₁ = 0.0143/wR ₂ = 0.0375	R ₁ = 0.0196/wR ₂ = 0.0509

Tabela 1: Tabela de dados Cristalográficos e parâmetros estruturais .Fonte: Elaborado pelo autor

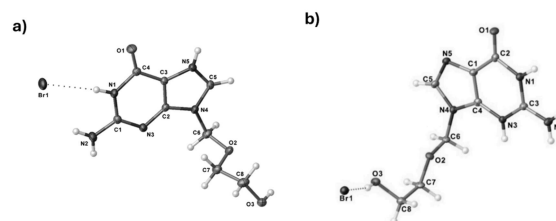


Figura 1: Representação tipo Ortep da unidade assimétrica do HACV·Br. (a) Forma P-1 (b) forma Cc.

Conclusões

O presente estudo demonstrou a viabilidade da obtenção de novas formas sólidas do bromidrato de aciclovir. As formas cristalinas P-1 e Cc foram estruturalmente elucidadas, revelando que a protonação ocorre em diferentes regiões, sendo um fator determinante para a formação de estruturas cristalinas distintas. A formação seletiva das fases mostrou-se altamente dependente da polaridade do solvente, com a mistura metanol/isopropanol (4:6) apresentando-se como a mais promissora. A presença simultânea de uma fase hidratada a P-1 sugere que, além do solvente, a acidez do meio pode ser um fator crítico. As próximas etapas do projeto consistirão na otimização da quantidade de HBr e na variação do pH para obter a fase P-1 de forma exclusiva e avaliar suas propriedades farmacocinéticas.

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Rubens A. A. Rosa concebeu e planejou o estudo, e realizou a coleta e análise dos dados. Paulo N. de Souza e o Prof. Dr. Javier A. Ellena participaram da redação e revisão final do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final do resumo.



Referências

Desiraju, G. R. (2013). Crystal engineering: From molecule to crystal. *Journal of the American Chemical Society*, 135(27), 9952–9967.

Characterization and Evaluation of the Pharmacokinetic Properties of New Crystalline Solid Forms of Antiviral Drugs

Rubens Antonio Alves Rosa

Paulo Nunes de Souza

Prof. Dr. Javier Alcides Ellena

University of São Paulo

rubensa2003@usp.br

Objectives

This project focuses on the synthesis and characterization of new solid forms of the antiviral Acyclovir (ACV) through the formation of the salt using hydrobromic acid. Based on Crystal Engineering strategies, the aim is to modulate physicochemical and pharmacokinetic properties, such as solubility and permeability, to improve the drug's bioavailability. The obtained solid forms were analyzed by X-ray diffraction (single crystal and powder) and thermal analyses to correlate the crystal structure with pharmaceutical performance.

Materials and Methods

The synthesis of the acyclovir hydrobromide salt (HACV·Br) was carried out by adding 200 μL of a hydrobromic acid solution of known concentration to a suspension of ACV in a solvent. As a result of the experiment, two tautomeric forms of the HACV·Br salt were obtained, one present in the P-1 space group and the other in the Cc space group. The Cc form was obtained separately using temperature variation, obtained at -4°C in a refrigerator; however, initially, the P-1 form was

only obtained in conjunction with the Cc form. Different solvents and mixtures (methanol, ethanol, isopropanol, water, and acetonitrile) were tested to modulate the polarity of the medium and obtain the crystalline forms separately. The standard protocol involved the dissolution of 67.5 mg of ACV in 3 mL of ethanol at 60°C , followed by the drop-by-drop addition of 600 μL of hydrobromic acid (HBr) under stirring. Structural characterization was conducted by powder X-ray diffraction for phase identification and by single-crystal X-ray diffraction for the detailed elucidation of the atomic structure.

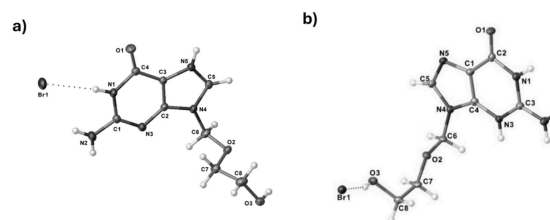
Results

Single-crystal X-ray diffraction analysis revealed the existence of two crystalline forms of acyclovir hydrobromide: one in the triclinic system and P-1 space group, and the other in the monoclinic system and Cc space group. The difference between these forms is due to the change in the protonation region on the acyclovir molecule, in the imidazole ring (P-1 Form) and in the pyrimidine ring (Cc Form). Figure 1 shows the different protonation regions of the acyclovir cation. The P-1 form is stabilized by ionic interactions $\text{HACV}^{+}\cdots\text{Br}^{-}$, hydrogen bonds, and $\pi\cdots\pi$ type interactions. The selective obtaining of the phases was

investigated by varying the solvent polarity in several experiments. It was verified that the methanol/water mixture (1:1) favored the formation of a hydrated phase of the drug to the detriment of the desired salt, while the mixture with acetonitrile proved ineffective for crystallizing the P-1 form as it did not stabilize the necessary ionic interactions. Likewise, methanol/isopropanol mixtures with low concentrations of methanol (1:9, 2:8, and 3:7 proportions) did not produce the phase of interest. However, the 4:6 proportion (methanol/isopropanol) resulted in the formation of the P-1 phase, although concomitantly with the hydrated form of acyclovir. This result indicates that the polarity of the medium is adequate, but the amount of acid will need to be adjusted in future experiments to favor the exclusive formation of the salt.

	HACV·Br (P-1)	HACV·Br (Cc)
Chemical Formula	C ₈ H ₁₃ N ₅ O ₃ Br	C ₈ H ₁₃ N ₅ O ₃ Br
Crystal System	Triclinic	Monoclinic
Space Group	P-1	Cc
<i>a</i> (Å)	6.73110(10)	5.40540(10)
<i>b</i> (Å)	8.73110(10)	29.8930(3)
<i>c</i> (Å)	8.65620(10)	7.12770(10)
α (°)	91.6700(10)	90
β (°)	106.1760(10)	107.614(2)
γ (°)	98.6080(10)	90
Volume (Å ³)	569.329(16)	1097.96(3)
Z	2	4
Radiation	Mo K α (λ = 0.71073)	Cu K α (λ = 1.54184)
Absorption Correction	Analytical	Gaussian
Max./min. Transmission	1.000/0.466	0.859/0.579
Goodness of fit (S)	1.056	1.051
Final R Indices [$\geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0143/wR_2 = 0.0375$	$R_1 = 0.0196/wR_2 = 0.0509$

Table 1: Crystallographic data and structural parameters. Source: Prepared by the author



Picture 1: Ortep-type representation of the asymmetric unit of HACV·Br. (a) P-1 Form (b) Cc form.

Conclusions

The present study demonstrated the feasibility of obtaining new solid forms of acyclovir hydrobromide.

The P-1 and Cc crystalline forms were structurally elucidated, revealing that protonation occurs in different regions, being a determining factor for the formation of distinct crystalline structures. The selective formation of the phases proved to be highly dependent on the solvent polarity, with the methanol/isopropanol mixture (4:6) being the most promising. The simultaneous presence of a hydrated phase with P-1 suggests that, in addition to the solvent, the acidity of the medium may be a critical factor. The next steps of the project will consist of optimizing the amount of HBr and varying the pH to obtain the P-1 phase exclusively and to evaluate its pharmacokinetic properties.

The authors declare no conflict of interest.

Rubens A. A. Rosa conceived and designed the study, performed the data collection and analysis, and contributed to the writing of the manuscript. Paulo N. de Souza contributed to the final revision of the abstract. Prof. Dr. Javier A. Ellena supervised all stages of the project. All authors approved the final version of the abstract.

References

Desiraju, G. R. (2013). Crystal engineering: From molecule to crystal. *Journal of the American Chemical Society*, 135(27), 9952–9967.