



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102021023325-7 A2

(22) Data do Depósito: 19/11/2021

(43) Data da Publicação Nacional:
30/05/2023

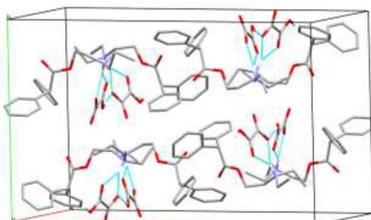
(54) **Título:** MÉTODO DE OBTENÇÃO DE DUAS NOVAS FORMAS CRISTALINAS DE ADIFENINA, SEUS SAIS OXALATO E CITRATO, FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E SEUS USOS

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/216; A61P 21/02; A61P 29/00.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.

(72) **Inventor(es):** THIAGO DE FREITAS RIBEIRO; CECILIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA; FELIPE TERRA MARTINS; ALISSON MORAES E SILVA.

(57) **Resumo:** MÉTODO DE OBTENÇÃO DE DUAS NOVAS FORMAS CRISTALINAS DE ADIFENINA, SEUS SAIS OXALATO E CITRATO, FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E SEUS USOS. A adifenina é um inibidor de receptor de acetilcolina usado como medicamento antiespasmódico devido à sua forte ação relaxante do músculo liso. O cloridrato de adifenina é amplamente comercializado em associações medicamentosas para tratar espasmos musculares, aliviando a dor. No entanto, esse cloridrato apresenta o sério problema de alta higroscopicidade e baixa estabilidade química em condições de alta umidade, que têm limitado seu uso como ingrediente farmacêutico ativo (IFA). Nesta patente, os problemas de baixa estabilidade química e alta higroscopicidade de adifenina foram solucionados por meio da preparação de suas formas cristalinas multicomponentes estáveis e não higroscópicas. Dois novos sais de adifenina foram projetados pelo reconhecimento de padrões de interações intermoleculares em estruturas cristalinas disponíveis na Base de Dados Estruturais de Cambridge (Cambridge Structural Database, CSD) e em regras de diferença de pKa. Esses sais, o oxalato e o citrato de adifenina, apresentaram menores higroscopicidades e melhores estabilidades química (maior temperatura de fusão e decomposição avaliados por calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria) do que o cloridrato de adifenina, potencializando-os como novos IFAs de adifenina.



“MÉTODO DE OBTENÇÃO DE DUAS NOVAS FORMAS CRISTALINAS DE ADIFENINA, SEUS SAIS OXALATO E CITRATO, FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E SEUS USOS”

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção destina-se ao método de obtenção de duas formas sólidas cristalinas de adifenina, seus sais oxalato e citrato, e suas formulações farmacêuticas. Adicionalmente, o presente pedido refere-se ao uso das formas cristalinas dos sais de adifenina no preparo de medicamentos e associações medicamentosas indicados como agentes antiespasmódicos, analgésicos e para o tratamento e prevenção da dor.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] A adifenina é um agente antiespasmódico e parassimpatolítico usada no tratamento de disfunções espasmáticas autônomas que tem como alvo o músculo liso do trato gastrointestinal (FEVRE, M.; JUHDAN, D.; TOLRNI AIR. J. E.; MORNEXR, R. Comparison of pharmacological effect of adipheneine and physiological stimulation by luteinizing hormone releasing hormone on luteinizing hormone release by rat anterior pituitaries in vitro. Can. J. Physiol. Pharmac., 57, 1388-1392, 1979). O seu amplo espectro de atuações farmacodinâmicas foi relatado pela primeira vez há 40 anos atrás. Entre as indicações terapêuticas da adifenina relatadas atualmente estão a disfagia espástica, os espasmos gastrintestinais, a gastrite, a úlcera gástrica, a úlcera duodenal, a colite espasmódica, a cólica hepática, a discinesia biliar e a cólica nefrótica (CRISTÁLIA: Sedador: dipirona + cloridrato de prometazina + cloridrato de adifenina. São Paulo: Hoechst, 2015. Bula de remédio). Além dessas atividades farmacológicas, vários autores relatam a suposta atuação em desordem respiratória e efeitos promissores sobre doença de Parkinson. Neste sentido, a eficácia terapêutica dessa molécula também foi explorada para tratamento de distúrbios do sistema

nervoso, em conjunto com avaliações sobre as propriedades neuromusculares (DELGA, J.; GIRARD, J.P. Enzymic hydrolysis of adiphenine hydrochloride (trasentine N.D.), and some related spasmolytics. Ann. Pharm. Fr., 14(7-8), 32-518; 1956).

[003] A adifenina apresenta várias rotas metabólicas, sendo que uma das mais conhecidas é a hidrólise enzimática com formação de alguns degradantes já conhecidos, como por exemplo, ácido difenilacético e também alguns espasmolíticos relacionados como o 2-etilamino-2,2-difenilacético e 2-etilamino-etil-2,2-difenilacético. O insumo farmacêutico ativo (IFA) é comercializado somente na forma de sal de cloridrato com estrutura polimórfica obtida por recristalização em benzeno (GUY, J.J.; HAMOR, A.T. Crystal and molecular structure of adiphenine hydrochloride, a muscarinic antagonist of acetylcholine. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 942-947, 1973). A saber, esta é a única fase cristalina conhecida e elucidada de adifenina até o momento. A estrutura foi obtida pela técnica de difração de raios X em monocristais, e seu sistema cristalino é monoclinico com grupo espacial $P2_1/c$, com um par iônico na unidade assimétrica cristalográfica e uma cela unitária de dimensões: $a=15,79 \text{ \AA}$; $b=7,28 \text{ \AA}$; $c=17,34 \text{ \AA}$; $\alpha=90^\circ$; $\beta=118,3^\circ$ e $\gamma=90$. Não existem fichas cristalográficas no banco de dados de difração de raios X de policristais PDF-4 orgânicos para este composto.

[004] Assim, como grande parte dos fármacos encontrados no estado sólido, o IFA começou a ser comercializado na forma de sal de cloridrato patenteado pela Ciba em 1941. O sal é formado a partir de uma reação ácido-base entre a adifenina base e ácido clorídrico gasoso, que é borbulhado em solução. A reação ocorre por protonação do nitrogênio terciário, o que leva a formação do cloridrato de adifenina. Atualmente, o cloridrato de adifenina pode ser encontrado comercialmente na forma de comprimidos orais ou solução oral, em associação com outros fármacos,

com os nomes de Dorilen®, Doriless®, Sedador®, Sedalene® e também em formulações de medicamentos genéricos, geralmente, associada com cloridrato de prometazina e dipirona sódica (ANVISA. Bula profissional de medicamentos. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/>>. Acessado em: 02 de março. 2021). Importante ressaltar que o cloridrato de adifenina é um dos ativos que compõem a forma farmacêutica de marcas conceituadas e de renome no mercado de medicamentos e que são referência de qualidade, segurança e eficácia. O sal de cloridrato de adifenina já possui segurança e eficácia comprovadas há décadas e a permissão da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para comercialização como componente ativo de fórmulas farmacêuticas. No entanto, o sal como se apresenta comercialmente, possui algumas características indesejáveis no que diz respeito às suas propriedades físicas e químicas, tais como a alta higroscopicidade e baixa estabilidade química em ambiente com umidade. Devido a essa característica, o fármaco perde sua estrutura cristalina, tornando o ambiente químico favorável para o processo de hidrólise, além de facilitar reações com outros excipientes da formulação e de alterar a granulometria de forma significativa pela formação de agregados sólidos (BLAGDEN, N.; MATAS, M. & GAVAN, P. T. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 617-630, 2007).

[005] A manipulação e estabilização de fármacos em formulação farmacêutica é um desafio a ser superado no processo de desenvolvimento de medicamentos pela indústria, em particular, quando o processo de absorção de umidade pelo IFA tem um papel relevante no mecanismo de degradação do ativo. O processo de degradação do cloridrato de adifenina em formulação já é um fato conhecido pelas indústrias farmacêuticas, uma vez que o IFA em questão sofre

degradação durante estudo de estabilidade acelerada a 40°C e 75% UR por um período de 6 meses. As empresas verificaram que o fármaco cloridrato de adifenina degrada facilmente durante o estudo de estabilidade no seu principal degradante, o ácido difenilacético, podendo chegar à porcentagem de 21% da quantidade de cloridrato de adifenina adicionada na formulação em 6 meses de estresse a 40°C e 75% UR. Devido à alta porcentagem de degradação, o impacto na qualidade, eficácia e segurança do medicamento são relevantes. Em razão disso, algumas empresas que trabalham com esse ativo tem a intenção de retirá-lo da formulação farmacêutica para evitar problemas de estabilidade química e física que prejudicariam tanto a estabilidade, devido a formação de vários degradantes, quanto a produção do medicamento, devido à dificuldade de produção em razão da alta higroscopicidade que afeta a granulometria e manipulação, respectivamente.

[006] Considerando a engenharia de cristais, o grupo funcional mais atraente da adifenina é a amina terciária que pode ser facilmente protonada. Na versão 5.40 do CDS, com atualizações de agosto de 2019 (1.034.174 entradas), existem 1610 estruturas para o sinton entre uma amina terciária protonada e um grupo carboxila, enquanto 171 entradas foram encontradas para a versão cocrystal do mesmo sinton, sem transferência de prótons entre os dois grupos. Essa alta abundância para a interação entre essas duas porções fundamentou a escolha de ácidos carboxílicos genericamente reconhecidos como seguros (sigla do inglês GRAS) para formar os sais de adifenina. Portanto, os ácidos escolhidos para realização da síntese geram uma forte tendência para formação de sais de adifenina, uma vez que seus valores de pKa1 a 25 °C (1,25-oxálico, 3,09- cítrico) diferem mais de 3 unidades do da adifenina (pKa 7,7)(Evstratova, K.I.; Goncharova, N.A.; Solomko, V.Y. Dissociation

constants of weak organic bases in acetone. *Farmatsiya* 17, 33-36, 1968). Logo, a formação do sal é preferida na síntese dos novos sais de adifenina, ainda mais considerando suas conhecidas energias de hidratação desfavoráveis comparadas aos cloridratos. Isto fundamenta a predição de sais de ácidos carboxílicos menos higroscópicos e, portanto, mais estáveis. Vale destacar que o aperfeiçoamento de propriedades farmacêuticas através da estratégia aplicada nesta patente, que consiste no preparo de formas cristalinas multicomponentes de fármacos aprovados para o uso terapêutico pelas agências reguladoras, como FDA, tem sido objeto de várias patentes de grandes farmacêuticas multinacionais, como, por exemplo, Novartis (Patente No. WO2019220390-A1), AstraZeneca (Patente No. WO9908500-A2), Pfizer (Patente No. WO9707800-A1) e Abbott (Patente No. US2010324018-A1).

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[007] A figura 1 ilustra o conteúdo da cela unitária cristalográfica do oxalato de adifenina, contendo oito pares iônicos, onde linhas azuis representam as ligações de hidrogênio intermoleculares. Essa projeção foi preparada com o programa MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. B*, vol. 58, p. 389-397, 2002) e omite todos os átomos de hidrogênio ligados covalentemente aos átomos de carbono.

[008] A figura 2 ilustra o conteúdo da cela unitária cristalográfica do citrato de adifenina, contendo quatro pares iônicos, onde linhas azuis representam as ligações de hidrogênio intermoleculares. Essa projeção foi preparada com o programa MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural

Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. B*, vol. 58, p. 389-397, 2002) e omite todos os átomos de hidrogênio ligados covalentemente aos átomos de carbono.

[009] A figura 3 exibe o difratograma de raios-X do oxalato de adifenina, cujo comprimento de onda dos raios X é 1,54056 angstroms. Esse difratograma foi calculado com o programa MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. B*, vol. 58, p. 389-397, 2002).

[010] A figura 4 exibe o difratograma de raios-X do citrato de adifenina, cujo comprimento de onda dos raios X é 1,54056 angstroms. Esse difratograma foi calculado com o programa MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. B*, vol. 58, p. 389-397, 2002).

[011] A figura 5 exibe as curvas de DSC (acima) e TG (abaixo) do oxalato de adifenina. Linhas azuis ilustram os intervalos de integração pontos azuis destacam as temperaturas de início e término dos eventos térmicos.

[012] A figura 6 exibe as curvas de DSC (acima) e TG (abaixo) do citrato de adifenina. Linhas azuis ilustram os intervalos de integração pontos azuis destacam as temperaturas de início e término dos eventos térmicos.

[013] A figura 7 exibe as isotermas de sorção de água a 25°C do oxalato de adifenina (abaixo) e do citrato de adifenina (acima). Linhas azuis e vermelhas representam os ciclos de absorção e dessorção,

respectivamente, enquanto P e P_0 são as pressões parcial e de vapor da água a 25°C , respectivamente.

[014] A figura 8 exibe as isotermas de sorção de água a 25°C (abaixo), a curva de TG (centro) e a curva de DSC (acima) do cloridrato de adifenina. Na isoterma de sorção, linhas azuis e vermelhas representam os ciclos de absorção e dessorção, respectivamente, enquanto P e P_0 são as pressões parcial e de vapor da água a 25°C , respectivamente. Nos gráficos de TG e DSC, linhas azuis ilustram os intervalos de integração pontos azuis destacam as temperaturas de início e término dos eventos térmicos.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[015] A presente invenção destina-se ao método de obtenção de duas formas sólidas cristalinas de adifenina, seus sais oxalato e citrato, e suas formulações farmacêuticas. Adicionalmente, o presente pedido refere-se ao uso das formas cristalinas dos sais de adifenina no preparo de medicamentos e associações medicamentosas indicadas como agentes antiespasmódicos, analgésicos e para o tratamento e profilaxia da dor.

[016] A adifenina é um inibidor de receptor de acetilcolina usado como medicamento antiespasmódico devido à sua forte ação relaxante do músculo liso. O cloridrato de adifenina é amplamente comercializado em associações medicamentosas para tratar espasmos musculares, aliviando a dor. No entanto, esse cloridrato apresenta o sério problema de alta higroscopicidade e baixa estabilidade química em condições de alta umidade, que têm limitado seu uso como ingrediente farmacêutico ativo (IFA).

[017] A presente invenção soluciona os problemas de baixa estabilidade química e alta higroscopicidade de adifenina por meio da preparação de suas formas cristalinas multicomponentes estáveis e não higroscópicas.

[018] Em uma primeira realização, a presente invenção refere-se ao planejamento molecular e físico-químico de dois novos sais de adifenina através do reconhecimento de padrões de interações intermoleculares em estruturas cristalinas disponíveis na Base de Dados Estruturais de Cambridge (Cambridge Structural Database, CSD) e em regras de diferença de pKa. Dois co-formadores reconhecidos como seguros (sigla do inglês GRAS, Generically Recognized-As-Safe), a saber, ácido cítrico e ácido oxálico, foram escolhidos. Invocando o princípio da desfavorável energia de hidratação e o aumento da energia de rede cristalina relativas àquelas dos cloridratos, sais de ácidos carboxílicos foram planejados, e os específicos ácidos carboxílicos utilizados na síntese foram determinados através da análise de complementaridade de padrões espaciais e eletrônicos de interações intermoleculares e no conhecimento dos perfis ácidos, isto é, na força ácida relativa ao fármaco adifenina (análise da diferença de pKa).

[019] Em uma segunda realização, a presente invenção refere-se a um método de obtenção de duas formas cristalinas de adifenina, seus sais oxalato e citrato, através das etapas de conversão o cloridrato de adifenina na adifenina base livre e posterior reação com ácidos carboxílicos, de acordo com o seguinte procedimento: (a) uma quantidade do sal de cloridrato de adifenina (por exemplo, 1 g) foi solubilizada em solvente (por exemplo, água, 10 mL), e, em seguida foi adicionada base (por exemplo, bicarbonato de sódio), com agitação, até pH elevado (por exemplo, próximo de 9). Após a estabilização do pH, houve a formação de uma camada oleosa de cor levemente amarronzada. (b) A solução foi transferida para um funil de separação e extraída com solvente orgânico (por exemplo, acetato de etila, três vezes de 10 mL cada). (c) A fase orgânica foi seca (por exemplo, usando sulfato de magnésio) e, posteriormente, filtrada e deixada para evaporação à temperatura

ambiente em local com fluxo de ar. (d) Solubilização de adifenina (por exemplo, 701 mg) isolada ao final da etapa anterior junto com co-formador ácido carboxílico (por exemplo, 540 mg de ácido cítrico e 253 mg de ácido oxálico) em solvente orgânico (por exemplo, etanol, 10 mL). (e) A mistura, posteriormente, foi deixada para evaporação à temperatura ambiente em local com fluxo de ar. (d) Lavagem do sólido formado com solvente à baixa temperatura (por exemplo, água a 4°C, três vezes de 10 mL cada) e secagem.

[020] Em uma terceira realização, a presente invenção refere-se a duas novas formas cristalinas de adifenina, seus sais oxalato e citrato, compreendendo na unidade assimétrica cristalográfica a espécie catiônica adifenina, com o átomo de nitrogênio protonado, e na espécie aniônica, o oxalato monodesprotonado ou o citrato monodesprotonado.

[021] A forma cristalina do oxalato de adifenina compreende ainda parâmetros de cela unitária cristalográfica, à temperatura ambiente, $a = 11,0901(9) \text{ \AA}$; $b = 15,3622(15) \text{ \AA}$; $c = 24,844(3) \text{ \AA}$; $\alpha = 90,00^\circ$; $\beta = 90,00^\circ$ e $\gamma = 90,00^\circ$; sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial *Pbca*. A forma cristalina do citrato de adifenina compreende ainda parâmetros de cela unitária cristalográfica, à temperatura ambiente, $a = 24,254(2) \text{ \AA}$; $b = 10,0435(8) \text{ \AA}$; $c = 10,8417(8) \text{ \AA}$; $\alpha = 90,00^\circ$; $\beta = 97,753(7)^\circ$ e $\gamma = 90,00^\circ$; sistema cristalino monoclinico e grupo espacial *P2₁/c*.

[022] Em uma quarta realização, a presente invenção refere-se às formas cristalinas dos sais oxalato e citrato de adifenina, caracterizadas pelo fato da análise de difração de raios X em pó apresentar posições em ângulos 2θ calculadas a partir dos parâmetros de cela unitária e simetria de grupo espacial descritos no parágrafo imediatamente acima, incluindo desvios de $\pm 0,2^\circ$ e ausências de intensidade difratadas, cela unitária e simetria do grupo espacial, devido a fenômenos físicos e instrumentais (por exemplo, orientação preferencial dos cristalitos).

[023] Em uma quinta realização, a presente invenção refere-se à forma cristalina do oxalato de adifenina, caracterizada pelos dois primeiros eventos térmicos observados por calorimetria exploratória diferencial (sigla do inglês DSC) iniciarem em 140°C e 191°C, respectivamente, e pelo primeiro evento térmico, associado à perda de massa, observado por termogravimetria (TG) iniciar após 180°C, incluindo desvios de $\pm 2^\circ\text{C}$ em ambas as técnicas.

[024] Em uma sexta realização, a presente invenção refere-se à forma cristalina do citrato de adifenina, caracterizada pelos dois primeiros eventos térmicos observados por calorimetria exploratória diferencial (sigla do inglês DSC) iniciarem em 132°C e 145°C, respectivamente, e pelo primeiro evento térmico, associado à perda de massa, observado por termogravimetria (TG) iniciar após 140°C, incluindo desvios de $\pm 2^\circ\text{C}$ em ambas as técnicas.

[025] Em uma sétima realização, a presente invenção refere-se à forma cristalina do citrato de adifenina, caracterizada pela incorporação de água lentamente a partir de 70% da umidade relativa (UR), aumentando até 2,6% de sua massa inicial em 90% de UR e finalizando o ciclo de dessorção (UR = 0%) com um ganho de 0,08% de água em relação a sua massa inicial.

[026] Em uma oitava realização, a presente invenção refere-se à forma cristalina do citrato de adifenina, caracterizada pela incorporação de água lentamente a partir de 50% da umidade relativa (UR), aumentando até 3,2% de sua massa inicial em 90% de UR e finalizando o ciclo de dessorção (UR = 0%) com um ganho de 0,12% de água em relação a sua massa inicial.

[027] Em uma nona realização, a presente invenção, trata de formulações farmacêuticas contendo as novas formas cristalinas de adifenina, seus sais oxalato e citrato, tais formas farmacêuticas podem

ser apresentar em formas sólidas, como pós, granulados, cápsulas, comprimidos, tabletes, comprimidos revestidos e drágeas.

[028] Em uma décima realização, o pedido de patente destina-se ao uso das novas formas cristalinas dos sais de adifenina no preparo de medicamentos e associações medicamentosas indicadas como agentes antiespasmódicos, analgésicos, para o alívio, tratamento e profilaxia da dor.

EXEMPLOS

PREPARAÇÃO DO OXALATO E DO CITRATO DE ADIFENINA

[029] Um grama (1g) do sal de cloridrato de adifenina foi solubilizado em 10 ml de água, e, em seguida bicarbonato de sódio foi adicionado, com agitação, até o pH próximo de 9,0. Após a estabilização do pH, houve a formação de uma camada oleosa de cor levemente amarronzada. A solução foi transferida para um funil de separação e extraída 3 vezes com 10mL de acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio (MgSO₄) e, posteriormente, filtrada e deixada para evaporação em temperatura ambiente, em local com fluxo de ar. A adifenina foi obtida na forma de um óleo viscoso de cor levemente amarronzada. Uma quantidade de 701 mg de adifenina isolada ao final da etapa anterior foi solubilizada junto com co-formador ácido carboxílico (540 mg de ácido cítrico ou 253 mg de ácido oxálico) em etanol (10 mL). A mistura, posteriormente, foi deixada para evaporação à temperatura ambiente em local com fluxo de ar. O sólido formado foi lavado com água a 4°C (três vezes de 10 mL cada) e mantido em local com fluxo de ar para secagem.

[030] Os sais obtidos (50 mg de cada) foram então recristalizados a partir de soluções de etanol/éter etílico (5 mL / 1 mL) e clorofórmio (5 mL). Após 10 dias de evaporação lenta do solvente em frascos de vidro com tampas perfuradas, cristais adequados ao experimento de difração

de raios X em monocristal foram isolados. Os rendimentos globais, desde a extração de adifenina de seu sal cloridrato até a recristalização, foram de 96% e 94% para os sais de citrato e oxalato, respectivamente, sendo que os difratogramas de raios X em pó dos sólidos secos antes e após à recristalização foram sobrepostos àqueles calculados a partir das estruturas cristalinas correspondentes usando o programa MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. Acta Crystallogr. Sect. B, vol. 58, p. 389-397, 2002).

ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DE MONOCRISTAL

[031] Cristais bem formados, translúcidos e monorrefringentes de oxalato e citrato de adifenina, foram selecionados para o experimento de difração de raios-X de monocristal. A coleta dos dados foi realizada a temperatura ambiente (293(1)K) com auxílio de um difratômetro Bruker-AXS Kappa Duo com um detector CCD APEX II (câmera CCD de 95 mm como detector e geometria angular κ), usando radiação de um tubo selado de Mo ($\text{MoK}\alpha = 0,71073 \text{ \AA}$).

[032] No caso do oxalato de adifenina, exatamente 22385 reflexões de Bragg foram coletadas à temperatura ambiente, com uma redundância três, em uma faixa angular em 2θ de $2,562^\circ$ a $29,998^\circ$ (variação dos índices de Miller: de -14 a 15 para h , de -21 a 21 para k , de -29 a 32 para l). No caso do citrato de adifenina, 15653 reflexões de Bragg foram coletadas à temperatura ambiente, também com uma redundância três, em uma faixa angular em 2θ de $2,776^\circ$ a $25,747^\circ$ (variação dos índices de Miller: de -20 a 19 para h , de -12 a 11 para k , de -13 a 13 para l). A completudeza em $2\theta_{\text{max}}$ foi 98,3% e 99,9% no caso do oxalato e do citrato de adifenina, respectivamente, e os parâmetros definitivos da cela

unitária cristalográfica foram calculados levando em consideração todas as reflexões coletadas.

[033] Os programas SAINT e SADABS (APEX2; Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2009) foram utilizados como ferramentas de interface computacional para a coleta dos dados, e para integração e correção de escala das reflexões.

[034] As estruturas foram resolvidas pelos métodos diretos de resolução do problema das fases da radiação difratada, implementados no programa computacional SHELXS-97 (SHELDRICK, SHELXS-97. Program for Crystal Structure Resolution. University of Göttingen: Göttingen, Alemanha, 1997).

[035] O modelo inicialmente obtido após recuperação estatística das fases das ondas e construção da distribuição da densidade eletrônica dentro da cela unitária cristalográfica mostrou todos os átomos não hidrogenóides. Este modelo foi refinado pelo método dos mínimos quadrados de matriz completa, minimizando a diferença entre os fatores de estrutura observados e calculados em F^2 , usando, para este propósito, o programa computacional SHELXL-97 (SHELDRICK, SHELXL-97. Program for Crystal Structures Analysis. University of Göttingen: Göttingen, Alemanha, 1997). Sobre 6075 reflexões independentes ($R_{\text{int}} = 0,0548$) no caso do oxalato de adifenina e sobre 4993 reflexões independentes ($R_{\text{int}} = 0,0365$) no caso do citrato de adifenina, 263 ou 424 parâmetros foram refinados, respectivamente. Todos os átomos de hidrogênio ligados covalentemente a átomos de carbono foram posicionados a partir de premissas estereoquímicas, com distâncias fixas de 0,93 Å (ligação C—H aromática), 0,97 Å (ligação C—H dentro de grupos metilenos), 0,98 Å (ligação C—H dentro de grupos metinos e ligação N—H) e 0,82 Å (ligação C—H dentro de grupos metinos).

[036] Um modelo de deslocamento térmico isotrópico foi considerado para os átomos de hidrogênio, sendo que, a cada átomo de hidrogênio ligado a átomo de carbono lhe foi atribuído um parâmetro térmico fixo e igual ao parâmetro térmico isotrópico equivalente do átomo ao qual foi ligado, acrescido de 20% deste valor ou 50% (apenas no caso dos hidrogênios metílicos e carboxílicos). Os átomos de hidrogênio amínico (proveniente da protonação) e carboxílico foram primeiramente localizados por análise diferencial de Fourier, e, ambos os parâmetros posicionais e térmicos (isotrópicos) destes átomos foram fixos nos refinamentos.

[037] Com a estrutura do oxalato de adifenina, os valores máximo e mínimo de densidade eletrônica não modelados dentro da cela unitária cristalográfica foram 0,795 e -0,271 e.Å⁻³, respectivamente, e os parâmetros de mérito finais foram: $S = 1,037$, $R_1(I > 2\sigma(I)) = 0,0820$ e $wR_2(\text{para todos os dados}) = 0,3108$.

[038] No caso da estrutura do citrato de adifenina, os valores máximo e mínimo de densidade eletrônica não modelados dentro da cela unitária cristalográfica foram iguais a 0,492 e -0,200 e.Å⁻³, respectivamente, $S = 1,031$, $R_1(I > 2\sigma(I)) = 0,0500$ e $wR_2(\text{para todos os dados}) = 0,1555$.

[039] O programa computacional MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. B*, vol. 58, p. 389-397, 2002) foi usado para confecção das representações gráficas estruturais, todas preparadas com a estrutura determinada à temperatura ambiente.

[040] Uma visão molecular da cela unitária cristalográfica do oxalato e do citrato de adifenina, preparada com MERCURY, pode ser vista na figura 1 e na figura 2, respectivamente.

ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DE PÓ

[041] Amostras obtidas antes e após o procedimento de recristalização dos sais oxalato e citrato de adifenina foram finamente particuladas e montados em uma lâmina de vidro sulcada para exposição ao feixe de raios-X. O experimento de difração de raios-X de pó foi conduzido em um difratômetro de pó da marca Rigaku Denki de geometria θ - 2θ , com detector de cintilação, gerador a 50 kV e 100 mA, radiação proveniente de um ânodo rotatório de Cu ($\text{CuK}\alpha, \lambda = 1,54187 \text{ \AA}$) e modo de varredura contínua. A varredura foi conduzida à temperatura ambiente (293(1) K), no intervalo de 10 a 50° em 2θ , com passo de 0,02° e velocidade de varredura de 1,000° /min.

[042] O difratograma de raios-X experimental foi igual ao padrão de difração de raios-X teórico, simulado dentro do programa MERCURY (I. J. BRUNO, J. C. COLE, P. R. EDGINGTON, M. KESSLER, C. F. MACRAE, P. McCABE, J. PEARSON and R. TAYLOR., New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. B*, vol. 58, p. 389-397, 2002) a partir da estrutura cristalina determinada por difração de raios-X de monocristal. As figuras 3 e 4 exibem os difratogramas de raios-X em pó calculados para os sais de oxalato e citrato de adifenina.

[043] Devido à inexistência de sinais de difração em posições (2θ) que não foram esperadas para o oxalato e o citrato de adifenina, as quais seriam referentes a outras fases cristalinas, e de qualquer região de difração por material não cristalino, comumente referido como halo

amorfo, possibilitou concluir a pureza das amostras e a alta eficiência do processo de preparação das novas formas cristalinas deste fármaco.

[044] A Tabela 1 sumariza as informações estruturais relativas à determinação da cela unitária cristalográfica do oxalato e do citrato de adifenina, usadas para o cálculo dos difratogramas exibidos nas figuras 3 e 4.

TABELA 1

Sistema cristalino	citrato	oxalato	
Grupo espacial	$P2_1/c$	$Pbca$	
Dimensões da cela unitária (Å)	<i>a</i>	24.254(2)	11.0901(9)
	<i>b</i>	10.0435(8)	15.3622(15)
	<i>c</i>	10.8417(8)	24.844(3)
Ângulo da cela $\neq 90,00^\circ$	$\beta=97.753(7)$	-	
Volume (Å ³)	2616.8(4)	4232.6(8)	
Número de pares iônicos por cela unitária (<i>Z</i>)	4	8	
Densidade calculada (g.cm ⁻³)	1.278	1.260	
Coeficiente de absorção (mm ⁻¹)	0.097	0.092	

[045] A unidade assimétrica cristalográfica de ambos sais oxalato e citrato de adifenina é composta pela espécie catiônica adifenina com o átomo de nitrogênio amínico protonado e pela espécie aniônica oxalato ou citrato, ambos monodesprotonados.

ANÁLISE POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL E

TERMOGRAVIMETRIA

[046] Para a obtenção das curvas de calorimetria exploratória diferencial (sigla do inglês DSC), foi utilizado um calorímetro modelo DSC 1 STAR da Mettler Toledo equipado com o Software STAR v.6.10. As amostras do oxalato e do citrato de adifenina foram acondicionadas em

cadinhos de alumínio selados e perfurados antes da análise, com rampa de aquecimento de 25° C até 400 °C e taxa de 10°C/minuto e gás de purga nitrogênio a um fluxo de 30 mL/minutos. Um cadinho de alumínio foi utilizado como referência. Para a obtenção das curvas termogravimétricas (TG) foi utilizado um equipamento TGA/DSC 1 STAR da Mettler Toledo com Software STAR v.6.10. As amostras foram acondicionadas em porta-amostras de porcelana antes da análise, com rampa de aquecimento de 30° C até 500 °C e taxa de 10°C/minuto e gás de purga nitrogênio a um fluxo de 30 mL/minutos.

[047] Na análise do oxalato de adifenina foi utilizado a massa de 5,0 mg. Pode-se observar o início do processo de fusão do sal em 140°C na curva de DSC, devido à presença de pico endotérmico, conforme mostrado na figura 5. Os eventos térmicos observados por DSC após 191°C são referentes ao processo de degradação da adifenina. A figura 5 mostra também a assinatura termogravimétrica do sal oxalato de adifenina obtida. Foi utilizado uma massa de 10,9 mg nesta última análise, devidamente pesada em cadinho de porcelana. Em temperaturas próximas a 180°C tem início à volatilização dos produtos de decomposição do sal, como observado no gráfico de TG, tendo como resíduo no final do processo 2,43% em massa que é completamente volatilizado em temperaturas próximas a 313°C. Pelo gráfico de TG apresentado na figura 5 é possível verificar que o processo de degradação ocorre em duas etapas principais.

[048] Na análise do citrato de adifenina foi utilizado a massa de 7,2 mg da amostra. Pode-se observar o início do processo de fusão do sal por DSC, devido à presença de um pico endotérmico iniciando em 132°C, conforme mostrado na figura 6. Os eventos térmicos após 145°C na curva de DSC podem ser referentes ao processo de degradação do ativo. A figura 6 também apresenta a assinatura termogravimétrica (TG) do citrato de

adifenina. Foi utilizado uma massa de 10,8 mg, devidamente pesada em cadinho de porcelana. Em temperaturas próximas a 140°C observa-se o início da perda de massa do sal, como observado no gráfico de TG, tendo como resíduo no final do processo 0,728% que é completamente volatilizado em temperaturas próximas a 308°C. Pelo gráfico apresentado na figura é possível verificar que o processo de degradação ocorre em duas etapas principais.

ANÁLISE POR SORÇÃO DINÂMICA DE VAPOR (DVS)

[049] O estudo de avaliação da higroscopicidade do oxalato e do citrato de adifenina foi realizado em um equipamento DVS (sorção dinâmica de vapor). As condições analíticas foram ajustadas para a obtenção do melhor ciclo de adsorção e de dessorção. A temperatura de início do estudo é de 25°C sendo a rampa de adsorção de 0, 20, 40, 50, 70 e 90 % de umidade relativa (UR) e a rampa de dessorção de 90, 70, 50, 40, 20, 00% de UR.

[050] Avaliando o ciclo de sorção (linha vermelha) da isoterma de adsorção de água do oxalato de adifenina, conforme mostrado na figura 7, é possível observar que este sal começa absorver água lentamente a partir de 70% de umidade relativa e chega a aumentar até 2,6% de sua massa inicial em 90% de umidade. Observa-se que no ciclo de dessorção (figura 7, linha azul) a massa da amostra diminui em função da diminuição da umidade relativa chegando ao final do ciclo de dessorção (UR = 0%) com uma retenção em massa de 0,08% de água, em relação à massa a amostra inicial.

[051] Avaliando o ciclo de sorção (linha vermelha) da isoterma de adsorção de água do citrato de adifenina, conforme mostrado na figura 7, é possível observar que este sal começa absorver água lentamente a partir de 50% de umidade relativa aumentando até 3,2% de sua massa inicial em 90% de umidade relativa. Observa-se que no ciclo de dessorção

(figura 7, linha azul) a massa da amostra diminui em função da diminuição da umidade relativa chegando ao final do ciclo (UR = 0%) com uma retenção em massa de 0,12% de água, em relação à massa da amostra inicial.

[052] A fim de comparação, para demonstrar a menor estabilidade química e maior higroscopicidade do cloridrato de adifenina, sal utilizado comercialmente como insumo farmacêutico ativo, e, portanto, as vantagens farmacêuticas e industriais infra reivindicadas do oxalato e do citrato de adifenina, a figura 8 mostra o ciclo de sorção (linha vermelha) da isoterma de adsorção de água deste sal, onde é possível observar que este sal começa absorver água rapidamente a partir de 50% de umidade relativa aumentando até 22% de sua massa inicial em 90% de umidade relativa. Observa-se que no ciclo de dessorção (figura 8, linha azul) a massa da amostra diminui em função da diminuição da umidade relativa chegando ao final do ciclo (UR = 0%) com uma retenção em massa de 5% de água, em relação à massa da amostra inicial. A figura 8 também mostra o gráfico de DSC do cloridrato de adifenina, com fusão iniciando em 93°C, uma temperatura muito inferior àquelas do oxalato e do citrato de adifenina. Além disso, a figura 8 ilustra uma temperatura de decomposição do cloridrato de adifenina, através da perda de massa na curva de TG, a partir de 170°C, que é uma temperatura inferior àquela do oxalato de adifenina.

REIVINDICAÇÕES

1. MÉTODO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMA SÓLIDA CRISTALINA DE ADIFENINA, caracterizado pelo fato de compreender as etapas de conversão o cloridrato de adifenina na adifenina base livre e posterior reação com ácidos caboxílicos, de acordo com o seguinte procedimento: (a) uma quantidade do sal de cloridrato de adifenina (por exemplo, 1 g) foi solubilizada em solvente (por exemplo, água, 10 mL), e, em seguida foi adicionada base (por exemplo, bicarbonato de sódio), com agitação, até pH elevado (por exemplo, próximo de 9). Após a estabilização do pH, houve a formação de uma camada oleosa de cor levemente amarronzada. (b) A solução foi transferida para um funil de separação e extraída com solvente orgânico (por exemplo, acetato de etila, três vezes de 10 mL cada). (c) A fase orgânica foi seca (por exemplo, usando sulfato de magnésio) e, posteriormente, filtrada e deixada para evaporação à temperatura ambiente em local com fluxo de ar. (d) Solubilização de adifenina (por exemplo, 701 mg) isolada ao final da etapa anterior junto com co-formador ácido carboxílico (por exemplo, 540 mg de ácido cítrico e 253 mg de ácido oxálico) em solvente orgânico (por exemplo, etanol, 10 mL). (e) A mistura, posteriormente, foi deixada para evaporação à temperatura ambiente em local com fluxo de ar. (d) Lavagem do sólido formado com solvente à baixa temperatura (por exemplo, água a 4°C, três vezes de 10 mL cada) e secagem.

2. SAL DE ADIFENINA, caracterizado pelo fato de compreender o oxalato de adifenina.

3. OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato da forma de oxalato compreender na unidade assimétrica cristalográfica a espécie catiônica adifenina, com o átomo de nitrogênio protonado, e na espécie aniônica, o oxalato monodesprotonado.

4. OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 2 e 3, caracterizado pelo fato da forma cristalina de adifenina compreender ainda parâmetros de cela unitária cristalográfica, à temperatura ambiente, $a = 11,0901(9) \text{ \AA}$; $b = 15,3622(15) \text{ \AA}$; $c = 24,844(3) \text{ \AA}$; $\alpha = 90,00^\circ$; $\beta = 90,00^\circ$ e $\gamma = 90,00^\circ$; sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial *Pbca*.

5. OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 2 a 4, caracterizado pelo fato da análise de difração de raios-X de pó compreender posições em 2θ calculadas a partir dos parâmetros de cela unitária e simetria de grupo espacial descritos em 7, incluindo desvios de $\pm 0,2^\circ$ e ausências de intensidade difratadas, cela unitária e simetria do grupo espacial, devido a fenômenos físicos e instrumentais (por exemplo, orientação preferencial dos cristalitos).

6. OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 2 a 5, caracterizado pelos dois primeiros eventos térmicos observados por calorimetria exploratória diferencial iniciarem em 140°C e 191°C , respectivamente, incluindo desvios de $\pm 2^\circ\text{C}$.

7. OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 2 a 6, caracterizado pelo primeiro evento térmico, associado à perda de massa, observado por termogravimetria iniciar após 180°C , incluindo desvios de $\pm 2^\circ\text{C}$.

8. OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 2 a 7, caracterizado pela incorporação de água lentamente a partir de 70% da umidade relativa (UR), aumentando até 2,6% de sua massa inicial em 90% de UR e finalizando o ciclo de dessorção (UR = 0%) com um ganho de 0,08% de água em relação a sua massa inicial.

9. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS, caracterizadas pelo fato de compreender o oxalato de adifenina.

10. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS, de acordo com a reivindicação 9, caracterizadas pelo fato das formulações compreenderem formas sólidas e líquidas.

11. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS, de acordo com as reivindicações 9 e 10, caracterizadas pelo fato das formas sólidas compreenderem pós, granulados, cápsulas, comprimidos, tabletes, comprimidos revestidos e/ou drágeas, opcionalmente, associados a veículos farmacêuticamente aceitáveis, e as líquidas compreenderem soluções, suspensões, emulsões, xaropes, entre outras.

12. USOS DA FORMA CRISTALINA DE OXALATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de compreender a preparação de medicamentos indicados como agentes antiespasmódicos, analgésicos, relaxantes musculares, e para o alívio, tratamento e profilaxia da dor.

13. SAL DE ADIFENINA, caracterizado pelo fato de compreender o citrato de adifenina.

14. CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato da forma de citrato compreender na unidade assimétrica cristalográfica a espécie catiônica adifenina, com o átomo de nitrogênio protonado, e na espécie aniônica, o citrato monodesprotonado.

15. CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 13 e 14, caracterizado pelo fato da forma cristalina de adifenina compreender ainda parâmetros de cela unitária cristalográfica, à temperatura ambiente, $a = 24,254(2) \text{ \AA}$; $b = 10,0435(8) \text{ \AA}$; $c = 10,8417(8) \text{ \AA}$; $\alpha = 90,00^\circ$; $\beta = 97,753(7)^\circ$ e $\gamma = 90,00^\circ$; sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P21/c$.

16. CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 13 a 15, caracterizado pelo fato da análise de difração de

raios-X de pó compreender posições em 2θ calculadas a partir dos parâmetros de cela unitária e simetria de grupo espacial descritos em 15, incluindo desvios de $\pm 0,2^\circ$ e ausências de intensidade difratadas, porém previstas pela cela unitária e simetria do grupo espacial, devido a fenômenos físicos e instrumentais (por exemplo, orientação preferencial dos cristalitos).

17. CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 13 a 16, caracterizado pelos dois primeiros eventos térmicos observados por calorimetria exploratória diferencial iniciarem em 132°C e 145°C , respectivamente, incluindo desvios de $\pm 2^\circ\text{C}$.

18. CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 13 a 17, caracterizado pelo primeiro evento térmico, associado à perda de massa, observado por termogravimetria iniciar após 140°C , incluindo desvios de $\pm 2^\circ\text{C}$.

19. CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 13 a 18, caracterizado pela incorporação de água lentamente a partir de 50% da umidade relativa (UR), aumentando até 3,2% de sua massa inicial em 90% de UR e finalizando o ciclo de dessorção (UR = 0%) com um ganho de 0,12% de água em relação a sua massa inicial.

20. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS, caracterizadas pelo fato de compreender o citrato de adifenina.

21. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS, de acordo com a reivindicação 20, caracterizadas pelo fato das formulações compreenderem formas sólidas e líquidas.

22. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS, de acordo com as reivindicações 20 e 21, caracterizadas pelo fato das formas sólidas compreenderem pós, granulados, cápsulas, comprimidos, tabletes, comprimidos revestidos e/ou drágeas, opcionalmente, associados a

veículos farmacologicamente aceitáveis, e as líquidas compreenderem soluções, suspensões, emulsões, xaropes, entre outras.

23. USOS DA FORMA CRISTALINA DE CITRATO DE ADIFENINA, de acordo com as reivindicações 13 a 22, caracterizado pelo fato de compreender a preparação de medicamentos indicados como agentes antiespasmódicos, analgésicos, relaxantes musculares, e para o alívio, tratamento e profilaxia da dor.

DESENHOS

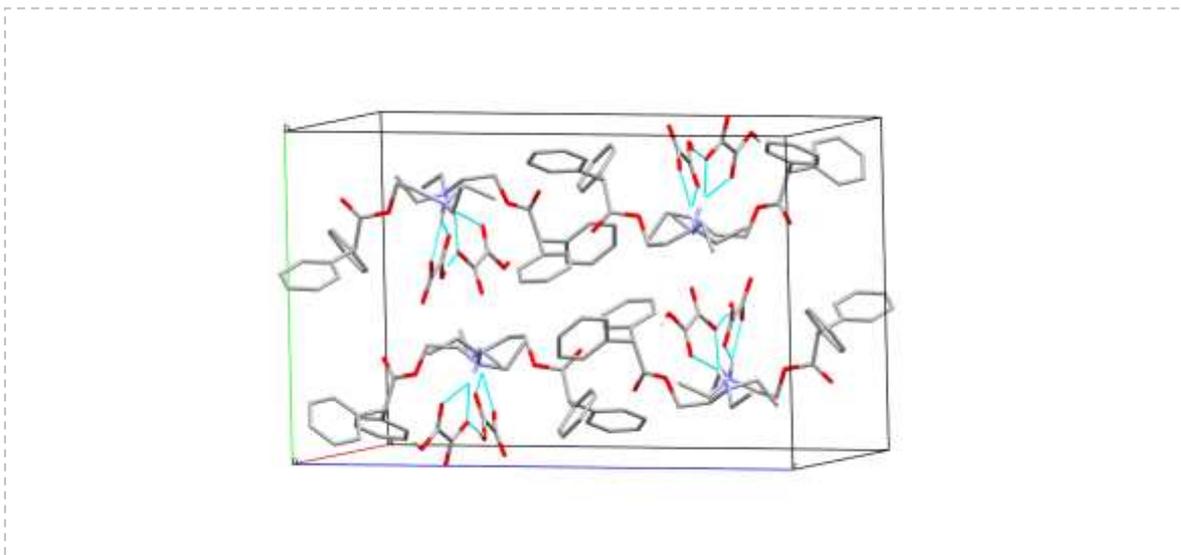


Figura 1

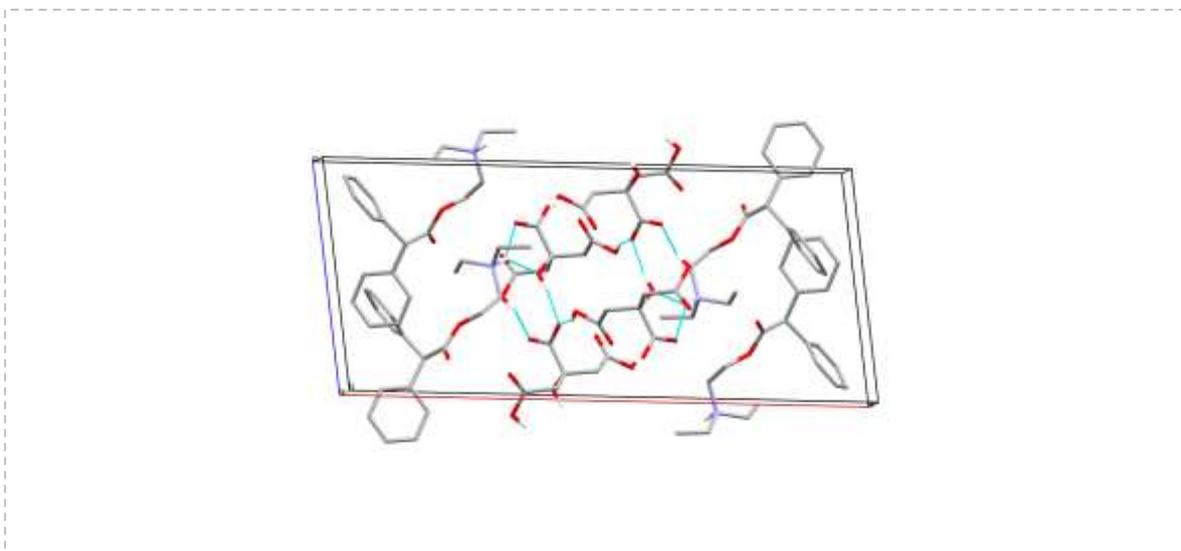


Figura 2

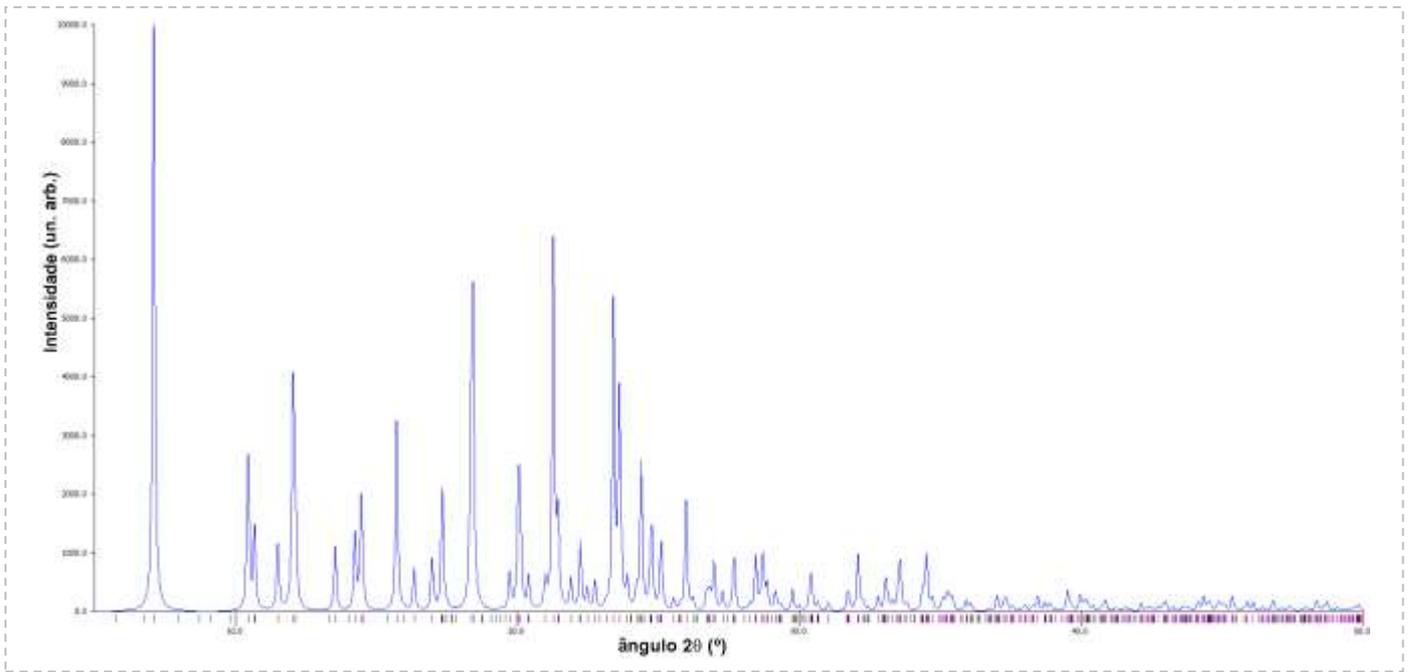


Figura 3

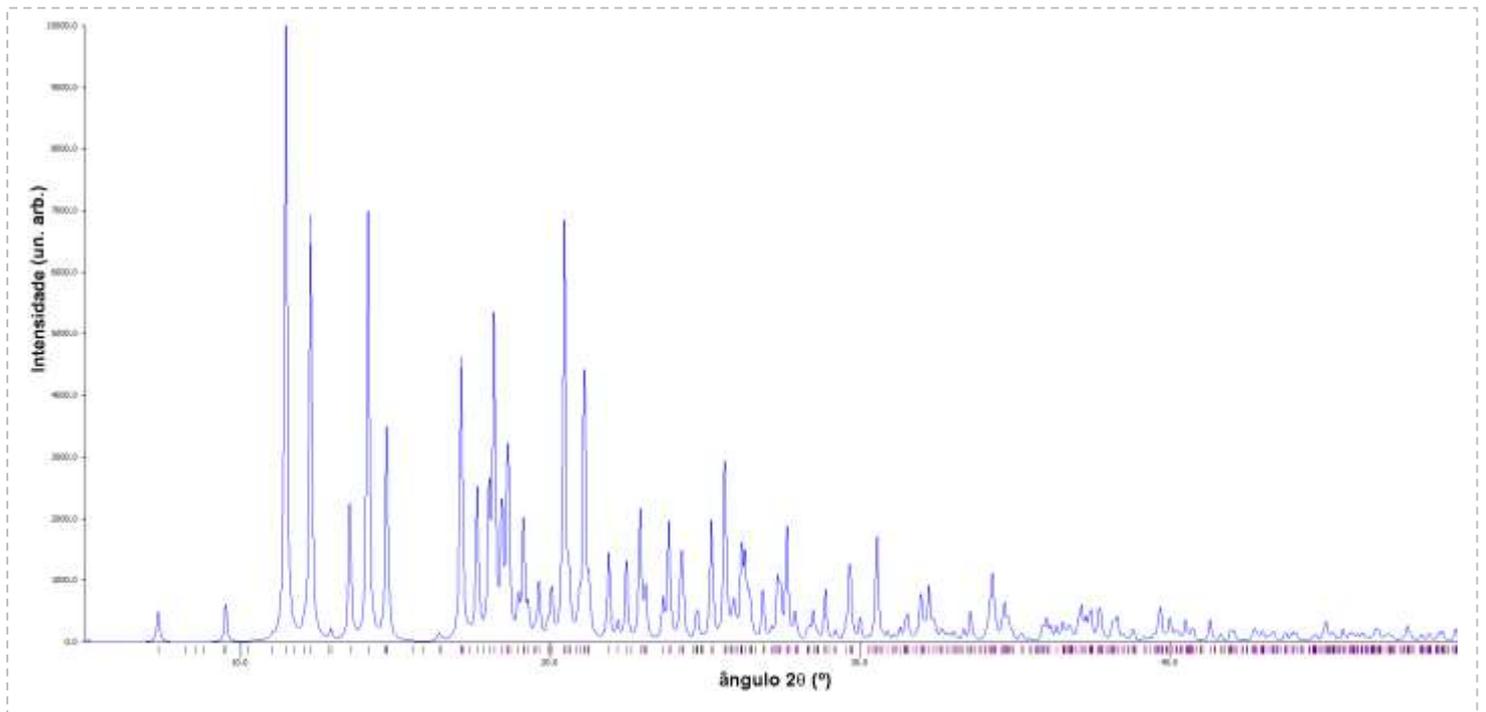


Figura 4

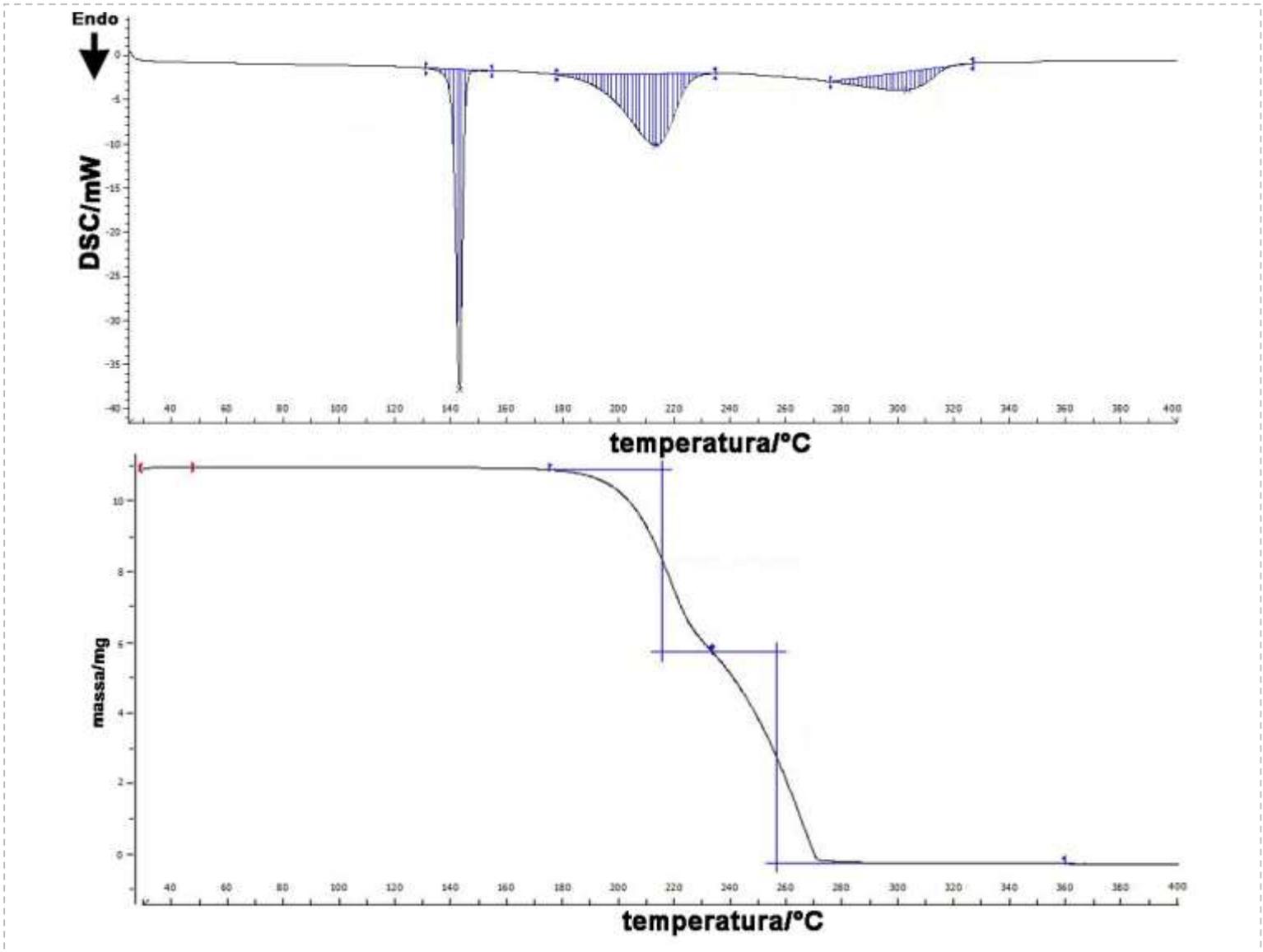


Figura 5

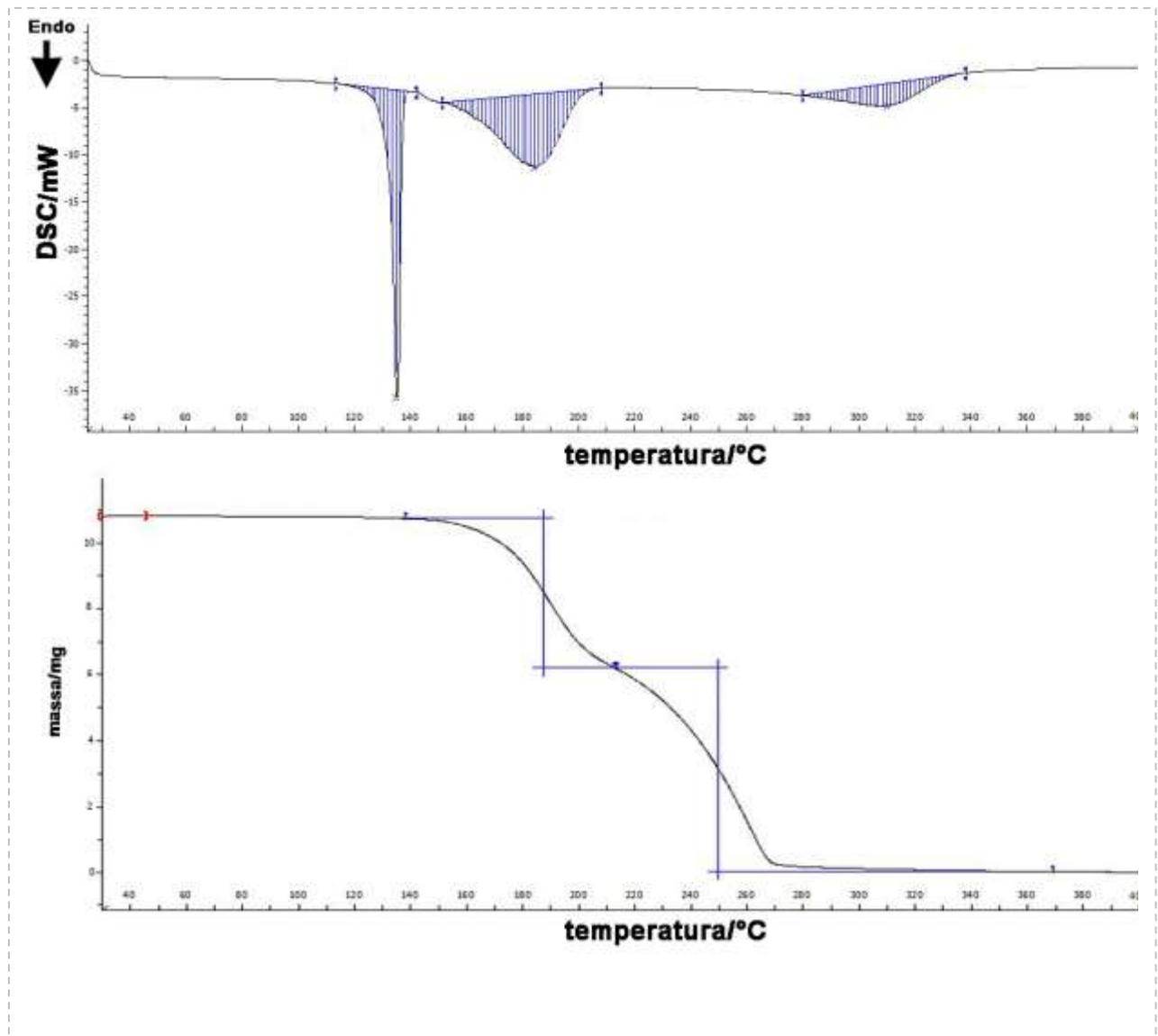


Figura 6

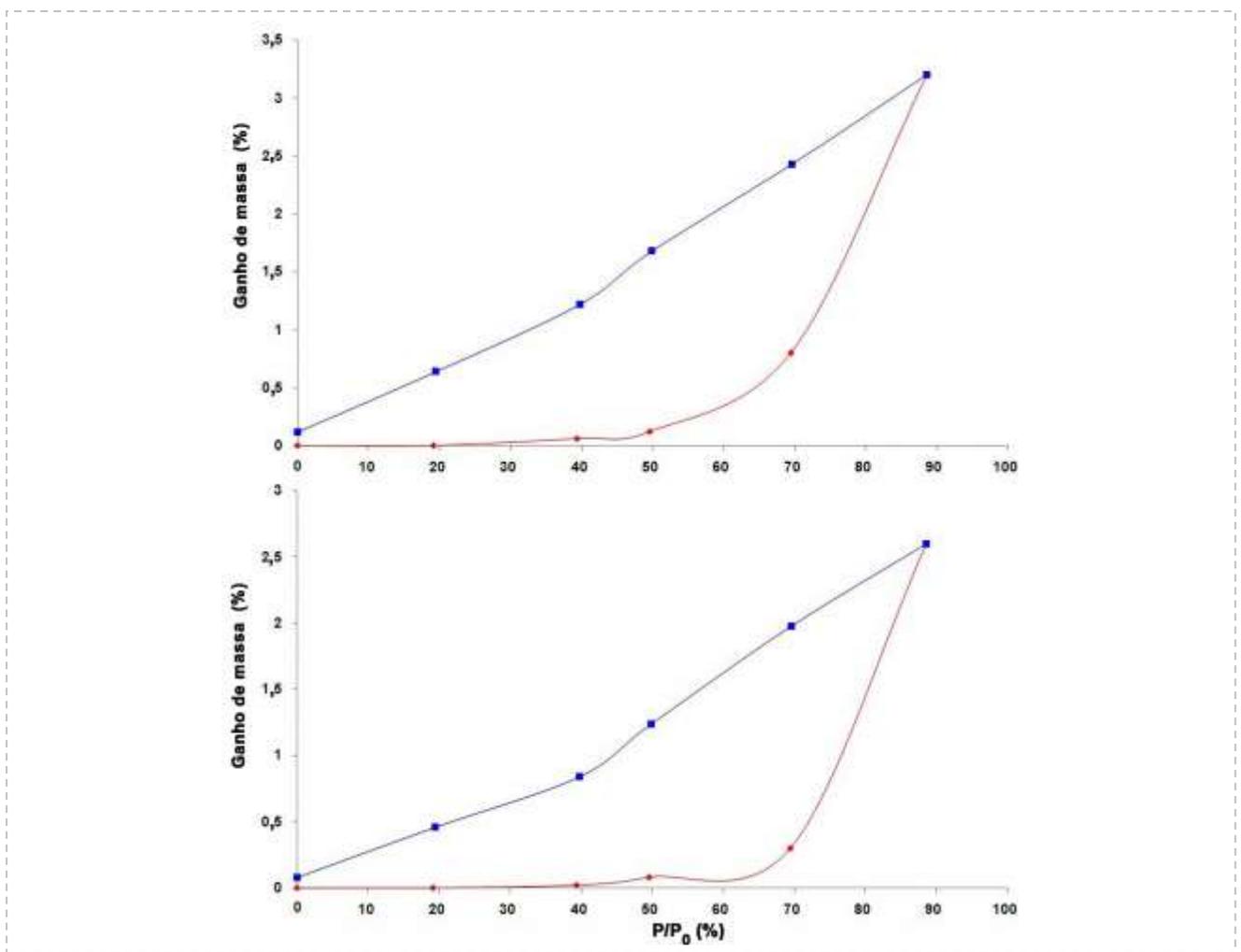


Figura 7

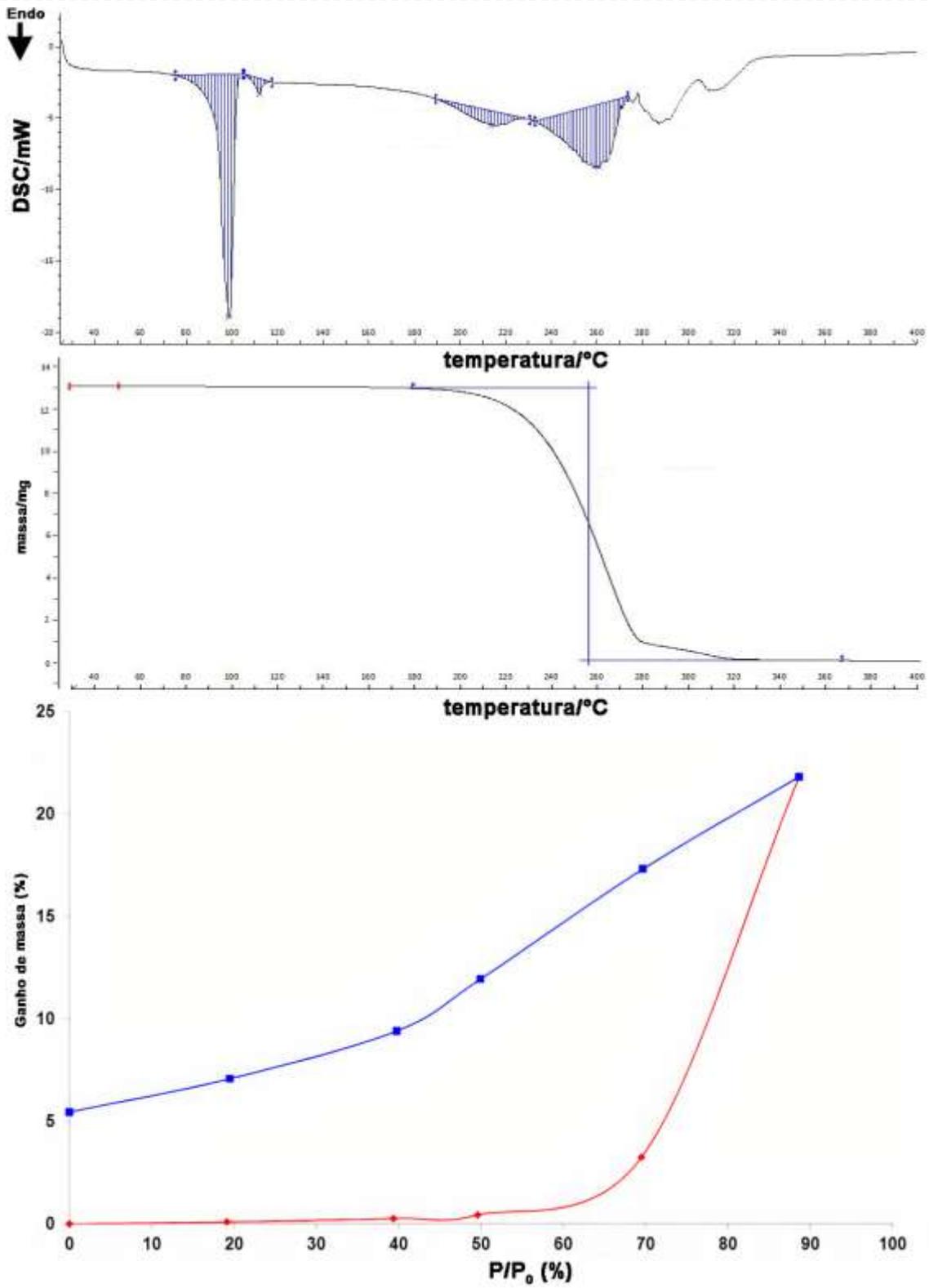


Figura 8

RESUMO**“MÉTODO DE OBTENÇÃO DE DUAS NOVAS FORMAS CRISTALINAS DE ADIFENINA, SEUS SAIS OXALATO E CITRATO, FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E SEUS USOS”**

A adifenina é um inibidor de receptor de acetilcolina usado como medicamento antiespasmódico devido à sua forte ação relaxante do músculo liso. O cloridrato de adifenina é amplamente comercializado em associações medicamentosas para tratar espasmos musculares, aliviando a dor. No entanto, esse cloridrato apresenta o sério problema de alta higroscopicidade e baixa estabilidade química em condições de alta umidade, que têm limitado seu uso como ingrediente farmacêutico ativo (IFA). Nesta patente, os problemas de baixa estabilidade química e alta higroscopicidade de adifenina foram solucionados por meio da preparação de suas formas cristalinas multicomponentes estáveis e não higroscópicas. Dois novos sais de adifenina foram projetados pelo reconhecimento de padrões de interações intermoleculares em estruturas cristalinas disponíveis na Base de Dados Estruturais de Cambridge (Cambridge Structural Database, CSD) e em regras de diferença de pKa. Esses sais, o oxalato e o citrato de adifenina, apresentaram menores higroscopicidades e melhores estabilidades química (maior temperatura de fusão e decomposição avaliados por calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria) do que o cloridrato de adifenina, potencializando-os como novos IFAs de adifenina.