



ESTUDOS ESTRUTURAL E TÉRMICO DE UM NOVO COMPÓSITO DO TUBERCOLOSTÁTICO HIDRAZIDA DO ÁCIDO 4- PIRIDINOCARBOXÍLICO

STRUCTURAL AND THERMAL STUDIES OF A NEW COMPOSITE OF THE TUBERCOLOSTATIC 4-PYRIDINECARBOXYLIC ACID HYDRAZIDE

Ylana M. M. Lima^{1*}, Yasmin S. Braga¹, Paulo R. S. Ribeiro¹

1. Núcleo de Ciências Farmacêuticas e Química Analítica Aplicada (NUPFARQ), Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM), Centro de Ciências de Imperatriz (CCIM), Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Imperatriz, MA, Brasil, CEP: 65.900-410.

ylana.maría@discente.ufma.br

RESUMO

As dispersões sólidas de fármacos (DSFs) são materiais compósitos constituídos por duas ou mais substâncias, sendo uma o fármaco e a outra o coformador. A obtenção de DSFs tem sido uma alternativa para a melhoria das propriedades físico-químicas destes princípios ativos, tal como o aumento da sua hidrossolubilidade. A isoniazida (ISO) é um antibiótico utilizado no tratamento da tuberculose, apresenta boa hidrossolubilidade e baixa permeabilidade membranar. A isonicotinamida (ISONIC) é uma base nitrogenada que tem sido utilizada como coformador na preparação de DSFs. Este trabalho objetivou a obtenção e a caracterização uma nova dispersão sólida a partir da interação da ISO com a ISONIC, utilizando a metodologia de evaporação lenta do solvente (ELS). Para tanto, realizou-se a obtenção da DSF de ISO-ISONIC na razão molar de 1:2. O material obtido foi caracterizado por difração de Raios X pelo método do pó (DRXP); por termogravimetria, termogravimetria derivativa e análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os resultados obtidos por DRXP mostraram a formação de um novo material, indicando a interação entre a ISO e a ISONIC. A curva TG do compósito ISO-ISONIC (1:2) mostrou que o material apresenta boa estabilidade térmica em até 215,0 °C. A partir das curvas DTA e DSC desta dispersão sólida observou-se que a fusão ocorreu em torno de 124,6 °C, sendo esta temperatura inferior ao ponto de fusão dos compostos de partida, indicando o aumento da hidrossolubilidade da ISO, contribuindo para o aumento da sua biodisponibilidade e da sua eficácia terapêutica.

Palavras-chave: Dispersão Sólida, Isoniazida, Isonicotinamida, Tuberculose

ABSTRACT

Solid drug dispersions (DSFs) are composite materials made up of two or more substances, one being the drug and the other being the coformer. Obtaining DSFs has been an alternative for improving the physicochemical properties of these active ingredients, such as increasing their water solubility. Isoniazid (ISO) is an antibiotic used to treat tuberculosis, it has good water solubility and low membrane permeability. Isonicotinamide (ISONIC) is a nitrogenous



base that has been used as a coformer in the preparation of DSFs. This work aimed to obtain and characterize a new solid dispersion from the interaction of ISO with ISONIC, using the slow solvent evaporation (ELS) methodology. To this end, a solid dispersion of ISO-ISOMIC was obtained in a molar ratio of 1:2. The material obtained was characterized by X-ray diffraction using the powder method (DRXP); by thermogravimetry, derivative thermogravimetry and simultaneous differential thermal analysis (TG/DTG-DTA) and by differential scanning calorimetry (DSC). The results obtained by DRXP showed the formation of a new material, indicating the interaction between ISO and ISONIC. The TG curve of the ISO-ISOMIC composite (1:2) showed that the material has good thermal stability, around 215.0 °C. From the DTA and DSC curves of this solid dispersion, it was observed that the melting occurred at around 124.6 °C, this temperature being lower than the melting point of the starting compounds, indicating the increase in ISO water solubility, contributing to the increase its bioavailability and therapeutic efficacy.

Keywords: Solid Dispersion, Isoniazid, Isonicotinamide, Tuberculosis

INTRODUÇÃO

As baixas taxas de solubilidade e dissolução aquosa são os fatores que mais afetam a absorção de fármacos orais. A indústria farmacêutica busca melhorar as propriedades físico-químicas dos IFAs, visto que a baixa taxa de dissolução e a reduzida hidrossolubilidade podem afetar consideravelmente a eficácia terapêutica destes. Assim, uma das abordagens utilizadas com o intuito de sanar essas dificuldades, consiste na obtenção de dispersões sólidas de fármacos.

As DSFs são materiais compósitos que podem ser obtidas a partir de uma mistura sólida de duas ou mais espécies químicas. Elas podem ser de diversos tipos, no estado sólido, dentre eles temos os cocristais, amorfos, polimorfos, sais, hidratos e solvatos¹. Elas podem ser obtidas por procedimento que consiste em dispersar um componente farmacologicamente ativo em um carreador ou matriz no estado sólido, a fim de melhorar a solubilidade e aumentar a taxa de dissolução^{2; 3}.

A Hidrazida ácido 4-piridinocarboxílico, também conhecida como isoniazida – ISO, é um fármaco amplamente utilizado para o tratamento de tuberculose (TB) devido a sua alta eficácia, podendo ser utilizada isoladamente para a prevenção da TB⁴. Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) a ISO pertence à classe III, atribuída à boa solubilidade aquosa e baixa permeabilidade membranar⁵.

A Isonicotinamida (ISONIC) é uma base nitrogenada, derivada da piridina com um grupo amido ($-CONH_2$), que tem sido estudada apresentando fortes propriedades antituberculares, antipiréticas, fibrinolíticas e antibacterianas. É reconhecida como um ativador de sirtuínas, as quais desempenham um papel importante na regulação de vários processos biológicos e é um dos compostos co-cristalizantes mais eficazmente utilizado, uma vez que o átomo de nitrogênio da piridina da molécula atua prontamente como um aceitador de ligações de hidrogênio quando confrontado com bons doadores, tais como ácidos carboxílicos e álcoois. Ela tem sido utilizada como coformador para a obtenção de DSFs, tais como cocristais de três moléculas farmacêuticas importantes, como a nicotinamida, membro do grupo da vitamina B, o ácido clofíbrico e o anti-inflamatório diclofenaco^{6; 7}.

Até o momento, não foram relatadas DSFs de ISO com a ISONIC. Dessa forma, a partir da realização deste trabalho foi possível obter uma nova dispersão sólida da ISO. Este

material é muito atrativo para a produção de medicamentos mais eficazes para o tratamento da tuberculose.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes e Solvente

Neste tópico são apresentados os reagentes e solvente utilizados nesta pesquisa que estão descritos na Tabela 1, onde mostra os principais dados fornecidos pelos fabricantes.

Tabela 1: Compostos utilizados na pesquisa e informações do fornecedor

Composto	Fabricante	MM (g.mol ⁻¹)	T _f (°C)	Pureza (%)
Isoniazida (ISO)	Sigma-Aldrich	137,14	170,0 – 174,0	98,0
Isonicotinamida (ISONIC)	Sigma-Aldrich	122,12	155,0 – 157,0	99,0
Solvente	Fabricante	MM (g.mol ⁻¹)	T _e (°C)	Pureza (%)
Metanol (MeOH)	Synth	32,04	64,5	99,9

Procedimentos Experimentais

Obtenção da dispersão sólida de ISO-ISOMIC (1:2)

Para a obtenção da dispersão sólida de ISO-ISOMIC (1:2) foram pesadas massas destes compostos, ISO 36,67 mg e ISOMIC 122,31 mg. Em seguida, estas massas foram dissolvidas em 25,00 mL de metanol (MeOH) em um bêquer de 50 mL. Posteriormente, a solução foi coberta com filme PVC transparente onde foram feitos pequenos furos aleatórios. A solução resultante foi colocada em repouso na estufa microbiológica a 35,0 ±1,0 °C até a evaporação completa (em torno de três dias). A seguir, o material obtido foi seco em uma estufa de circulação forçada de ar a 50,0±1,0 °C durante 2 horas e devidamente armazenado. A mistura física ISO-ISOMIC (1:2)_{MF} foi preparada na mesma razão molar. As massas foram pesadas e misturadas em um gral de ágata, onde foram misturadas manualmente durante 2 minutos, sem a adição de solvente.

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

As amostras obtidas neste estudo foram caracterizadas por DRXP. Assim, os difratogramas foram obtidos em um equipamento *PANanalytical Empyrean*, com radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) operando com tensão de 40 kV e corrente de 30 mA, à temperatura ambiente. Os padrões de difração foram coletados de 2° a 45° (2 θ), utilizando um passo de 0,02° e com o tempo de 2,0 segundos por passo. Os valores de picos cristalográficos foram obtidos a partir do software *X'pertHighScore Plus* (versão 2.0 da marca PANalytical). Posteriormente, os resultados encontrados para os compostos de partida (ISO e ISOMIC) foram comparados com os dados relatados no banco de dados cristalográfico CCDC ConQuest, versão 5.36 da Cambridge Structural Database System (CSD System, 2014) utilizando o método de Rietveld.

Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise Térmica Diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA)

As curvas TG/DTG-DTA dos materiais 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 de cada composto, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL min^{-1} e razão de aquecimento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. O suporte para a amostra utilizado foi de alfa-alumina e a massa de amostra usada foi entre 2,00 e 5,00 mg.

O software *TA 60*, versão 2.1 da Copyright *Shimadzu Scientific Instruments* foi utilizado para interpretar as inflexões de perdas de massas e das diferenças de temperatura nas curvas TG/DTG-DTA. A título de comparação, os compostos precursores não recristalizados (ISO_{NREC} e $\text{ISONIC}_{\text{NREC}}$) também foram analisados e comparados com o obtido para os compostos recristalizados.

Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As amostras obtidas neste estudo foram caracterizadas por DSC. As curvas DSC dessas amostras 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 nitrogênio e com vazão de 50 mL min^{-1} . A taxa de aquecimento de equilíbrio programada foi de $5,0 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Utilizou-se um cadiño de alumínio com aproximadamente 2,00 mg da amostra, como suporte para as amostras e como referência, usou-se um cadiño similar, porém vazio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

A Figura 1 apresenta os padrões de Difração de Raios X da ISO_{REC} , da mistura binária ISO-ISONIC na razão molar de 1:2, da mistura física ISO-ISONIC (1,0:2,0)_{MF} e da $\text{ISONIC}_{\text{REC}}$.

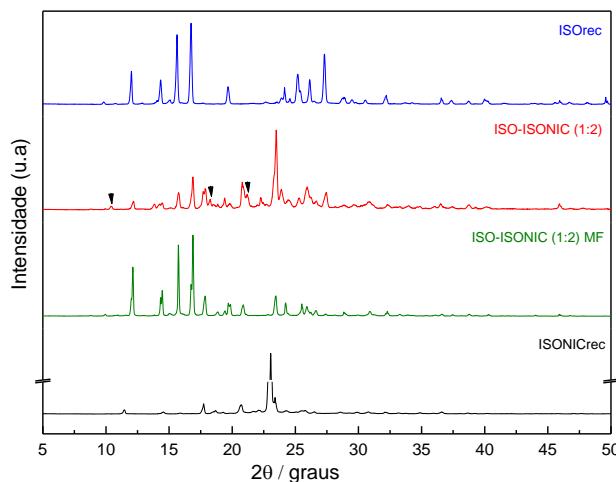


Fig. 1: Difratogramas obtidos por DRXP da ISO_{REC} , ISO-ISONIC (1,0:2,0), ISO-ISONIC (1,0:2,0)_{MF} e $\text{ISONIC}_{\text{REC}}$.

O perfil de difração da mistura binária de ISO-ISOMIC na proporção molar de 1,0:2,0 apresentou alterações em relação aos difratogramas dos compostos de partida, indicando a formação de um novo material cristalino e uma nova DSF. Estas alterações estão relacionadas com a presença de novos picos e com o deslocamento de picos presentes na ISO e na ISOMIC. Assim, os resultados de DRXP da DSF de ISO-ISOMIC (1,0:2,0) apresentou novos picos em 10,4, 18,8, 21,1° 2(θ), e pico deslocado em 14,3° 2(θ).

Enquanto que o perfil de difração da mistura física de ISO-ISOMIC (1,0:2,0)_{MF} apresentou-se equivalente ao somatório dos picos cristalográficos apresentados pelos compostos de partida. Dessa forma, neste material não há evidência de interação intermolecular entre os compostos de partida apenas pelo contato físico. Portanto, para que haja esta interação e posterior obtenção da DSF de ISO-ISOMIC (1:2) torna-se necessário o uso do processo de evaporação lenta do solvente.

Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise Térmica Diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA)

O comportamento térmico da DSF ISO-ISOMIC (1,0:2,0) foi investigado por TG/DTG-DTA, e as curvas térmicas obtidas são apresentadas na Fig. 2, onde também estão representadas as curvas obtidas para a ISO_{REC}, ISOMIC_{REC} e ISO-ISOMIC (1,0:2,0)_{MF}. Nos gráficos estão indicadas as temperaturas de ocorrência (T_{onset}) de cada evento observado.

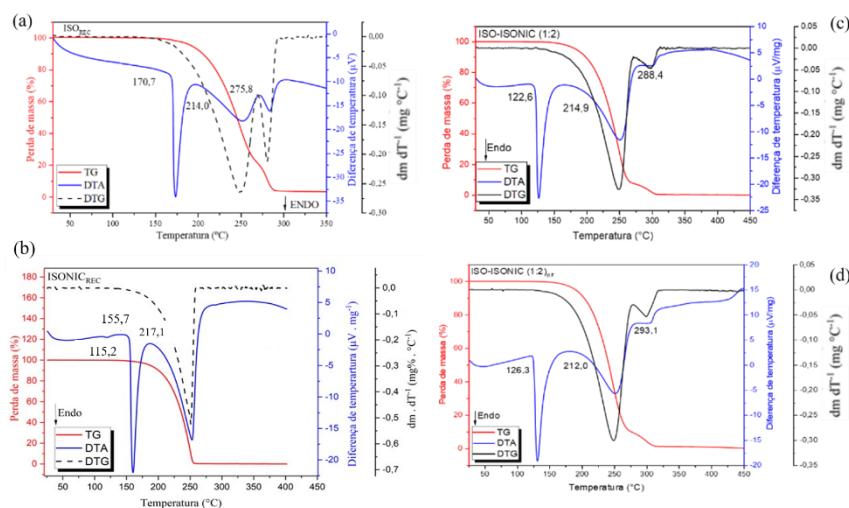


Fig. 2: Curvas TG/DTG-DTA obtidas para a ISO_{REC} (a), ISOMIC_{REC} (b), ISO-ISOMIC (1,0:2,0) (c) e ISO-ISOMIC (1,0:2,0)_{MF} (d).

As curvas TG/DTG da ISO_{REC} (Figura 2(a)) mostram dois eventos endotérmicos relativos à perda de massa, correspondente a primeira e segunda etapa da decomposição fármaco. A curva DTA (Figura 2(a)) deste material mostram três eventos endotérmicos. A primeira etapa corresponde à fusão do fármaco em 170,7 °C (T_{onset})⁸. A segunda etapa do evento observado corresponde a 61,5% de perda de massa relacionado à decomposição do fármaco que acontece em duas etapas simultâneas, possuindo temperatura de início (T_{onset}) em 214,0 °C. A terceira etapa é relacionada à decomposição simultânea do material com temperatura de início (T_{onset}) em 275,8 °C, com perda de massa de 13,3% da massa total. As curvas TG/DTG da ISOMIC_{REC} (Figura 2(b)) mostra apenas um evento térmico, referente a perda de massa por decomposição. A curva DTA (Figura 2(b)) deste material mostra

três eventos térmicos, o primeiro que corresponde ao evento de transição de fase sólido-sólido para Forma IV do fármaco, possuindo a temperatura de início (T_{onset}) em 115,2 °C. O segundo evento térmico corresponde à fusão da Forma IV do fármaco, com temperatura de início (T_{onset}) 155,7 °C⁹. E o terceiro evento que está relacionado a decomposição do material com temperatura de início (T_{onset}) em 217,1 °C.

A (Figura 2(c)) mostra as curvas TG/DTG-DTA da DSF de ISO-ISONIC (1:2). Assim, observou-se nas curvas TG/DTG dois eventos endotérmicos relativos à perda de massa, correspondente a decomposição do material. Enquanto que na curva DTA foi possível observar três eventos endotérmicos. A primeira etapa expõe o evento de fusão da dispersão sólida do tipo cristalino, sem perda de massa, possuindo a temperatura de início (T_{onset}) em 122,6 °C. A segunda etapa do evento térmico corresponde a decomposição do excesso de ISONIC, com temperatura de início (T_{onset}) em 214,9 °C, correspondente a perda de massa de 90,0%. A terceira etapa é relacionada a decomposição simultânea do material com temperatura de início (T_{onset}) em 288,4 °C, com perda de massa de 4,9% e 5,4% da massa total. Dessa forma, a DS ISO-ISONIC (1,0:2,0) apresentou estabilidade na faixa de temperatura de 122,6 até 214,9 °C.

Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Figura 3 mostra as curvas de DSC da ISO_{REC}, da DSF de ISO-ISONIC (1,0:2,0), da mistura física ISO-ISONIC (1,0:2,0)_{MF} e da ISONIC_{REC}.

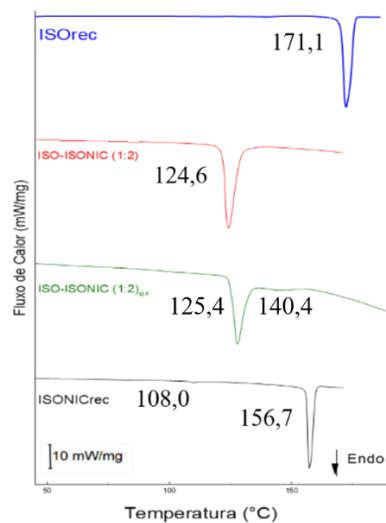


Fig. 3: Curvas de DSC da ISO_{REC}, da DSF de ISO-ISONIC (1,0:2,0), da mistura física de ISO-ISONIC (1,0:2,0)_{MF} e da ISONIC_{REC}.

A curva de DSC da ISO_{REC} apresentou um evento endotérmico em 171,1 °C (T_{onset}), sendo que este evento é relativo à fusão deste fármaco¹⁰. A curva de DSC da ISONIC_{REC} mostrou duas endotermas, sendo que a primeira foi observada em 108,0 °C (T_{onset}), referente à transição de fase sólido-sólido da Forma I para a Forma VI. Enquanto que, o segundo evento ocorrido em 156,7 °C (T_{onset}) é referente à fusão da Forma VI, conforme relatado na literatura⁹.

A curva de DSC da DSF de ISO-ISONIC (1,0:2,0) mostrou apenas um evento endotérmico em 124,6 °C (T_{onset}) relativo à fusão do novo material formado. Assim, foi possível confirmar a ocorrência de interação entre os compostos de partida e a formação de



referida DSF. Além disso, foi possível observar o evento de fusão do material apresenta temperatura inferior às temperaturas de fusão dos compostos de partida, indicando o aumento da hidrossolubilidade da ISO no material formado.

A curva de DSC da mistura física ISO-ISOMIC (1,0:2,0)_{MF} apresentou duas endotermas em 125,4 °C (T_{onset}) e em 140,4 °C (T_{onset}). Elas estão relacionadas às fusões da ISO e da ISOMIC, respectivamente. Logo, o simples contato entre os compostos de partida não foi suficiente para a formação da DSF de ISO-ISOMIC, sendo necessário o emprego da metodologia de ELS para a formação deste material.

CONCLUSÃO

Foi possível obter uma nova dispersão sólida cristalina de ISO-ISOMIC (1,0:2,0), utilizando a técnica de evaporação lenta do solvente (ELS). O difratograma obtido para a mistura binária apresentou perfil indicando a formação de um novo material cristalino. As curvas TG/DTG-DTA do material apresentou boa estabilidade térmica em torno de 215,0 °C. A curva DSC confirmou a formação de novo material, pois apresentou evento endotérmico único relativo à fusão (124,6 °C), uma vez que o evento térmico da mistura binária se mostrou diferente daqueles apresentados pelos compostos de partida, contando também com o adiantamento da temperatura de fusão.

Desta forma, pode-se observar a importância destes novos materiais, que são atrativos para a melhoria do tratamento da tuberculose, pois contribuem para o aumento da hidrossolubilidade do fármaco utilizado, favorecendo o aumento da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica da ISO.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, À FAPEMA e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- 1· ALVES, L. D. S.; LYRA, M. A. M.; ROLIM, L. A.; PRESMIC, G. M. A.; ROLIM-NETO, P. J. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 33, n. 1, 2012.
2. WANG, P. PRADHAN, K. ZHONG, X. MA, X. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta pharmaceutica sinica B*, v. 6, n. 5, p. 384-392, 2016.
- 3· MOHYLYUK, V.; BANDERE, D. High-Speed Tableting of High Drug-Loaded Tablets Prepared from Fluid-Bed Granulated Isoniazid. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 4, p. 1236, 2023.
- 4· BÁTHORI, N. B. LEMMERER, A. VENTER, G. A. BOURNE, S. A. Pharmaceutical Co-crystals with Isonicotinamide Vitamin B3, Clofibrate Acid, and Diclofenac and Two Isonicotinamide Hydrates. *Crystal growth & design*, v. 11, n. 1, p. 75-87, 2011
5. YURDAKUL, S. Synthesis, spectroscopic and structural studies on metal halide complexes of isonicotinamide. *Vibrational Spectroscopy*, v. 31, n. 1, p. 41-49, 2003.
6. LU, Z. CHEN, H. MO, J. YUAN, X. WANG, D. Cocrystal of phloretin with isoniazid: preparation, characterization, and evaluation. *RSC advances*, v. 13, n. 16, p. 10914-10922, 2023.
7. VICATOS, A. I.; CAIRA, M. R. A new polymorph of the common coformer isonicotinamide. *Crystengcomm*, v. 21, n. 5, p. 843-849, 2019.
8. SWAPNA, B.; MADDILETI, D.; NANGIA, A. Cocrystals of the tuberculosis drug isoniazid: polymorphism, isostructural, and stability. *Crystal growth & design*, v. 14, n. 11, p. 5991-6005, 2014.