

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## FORMULAÇÃO ESTERIFICADA DE UM ANTI-INFLAMATÓRIO: ESTUDO DE FARMÁCOS DERIVATIZADOS

Sarah Santana Faustino Silva<sup>1</sup>, Yoná Benedito Silva<sup>1</sup>, Andreza Ribeiro Simioni<sup>1</sup>, Adjaci Uchôa Fernandes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Paraíba, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, sarah.santana524@gmail.com, yona\_silvaa@hotmail.com, simioni@univap.br.

<sup>2</sup>Base Verde, Rodovia Geraldo Scavone, 2080, Jardim California – 12305-490 - Jacareí – SP, Brasil, adjaci@hotmail.com.

**Resumo** – O diclofenaco é um potente anti-inflamatório não esteroidal (AINE), todavia o medicamento apresenta efeitos adversos principalmente relacionados a problemas gastrointestinais. Este trabalho foi desenvolvido visando melhorar a atividade do fármaco, pois estudos apresentam novos processos de derivatizações para alterarem e controlarem a atividade de medicamentos. Empregando um protocolo de esterificação de Fisher partindo da formulação sódica, a pesquisa teve como objetivo sintetizar um éster do diclofenaco mais efetivo por aplicação tópica. O procedimento experimental contou com três métodos de purificação: partição, cromatografia em TLC e coluna. O derivatizado foi analisado por uma caracterização de ressonância magnética de prótons, de modo averiguar a estrutura do éster obtido. O produto sintetizado apresentou a característica física de cristal, em que se obteve um rendimento de 93% indicando alta conversão do diclofenaco com o protocolo estabelecido.

**Palavras-chave:** Diclofenaco, AINE, esterificação de Fisher.

**Área do Conhecimento:** Ciências Exatas e da Terra.

### Introdução

Dentre os fármacos que apresentam maior atividade anti-inflamatória destaca-se o diclofenaco, que é derivado do ácido fenilacético (BOTTING, VANE, 1996). Esta é a classe de medicamentos prescritos para o tratamento do processo inflamatório, possuindo a característica de analgésico e antipirético (GAN, 2010). Em 1971 J. R. Vane propôs o primeiro mecanismo de ação dos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) estudando a ácido acetil salicílico, em que verificou o processo inflamatório decorrente da produção de prostaglandina pela enzima COX. Um estudo procedente realizado por Needleman *et al* (1990) confirmou a presença de isoformas da enzima COX em que há uma separação de funções.

A COX-1 está envolvida no processo de manutenção do corpo e produz prostaglandina para mediar a função plaquetária normal, regular a função renal e o fluxo sanguíneo (BOTTING, VANE, 1996). A segunda isoforma apresenta-se quando ocorre um estímulo lesivo, sendo responsável pela produção de prostaglandinas aumentando a sensibilidade a dor, a aparição da febre e a inflamação local (HINZ, BRUNE, 2001). Em vista disso iniciou-se o desenvolvimento de novas formulações seletivas a COX-2 que desempenhassem melhores resultados (BOTTING, VANE, 1996).

O modelo de comparação de inibição COX-1/COX-2 comprovou que o diclofenaco apresenta seletividade à COX-2 com uma taxa de 80% (WALLACE *et al*, 2000). Todavia, o medicamento apresenta efeitos adversos principalmente relacionados a problemas gastrointestinais, em que estudos demonstram a inibição da COX-1 com uma taxa de 70% devido ao acúmulo do anti-inflamatório no plasma celular (WALLACE *et al*, 2000).

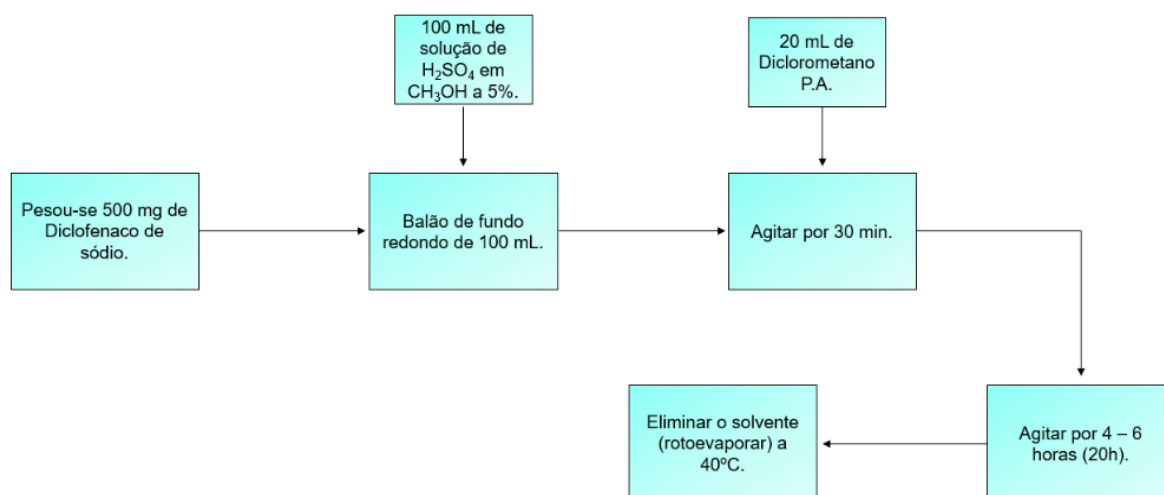
Estudos na área da farmacologia apresentam novas metodologias para melhorarem a atividade de medicamentos, utilizando-se de derivatizações para alteração e controle de biodistribuição, farmacocinética e toxicidade dos fármacos (KHANDARE, MINKO, 2006). O presente estudo tem o objetivo de obtenção de um derivado ester do diclofenaco que possa ser mais efetivo por aplicação tópica.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## Metodologia

A reação de esterificação (Figura 1) foi realizada utilizando-se de 500 mg de Diclofenaco sódico em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionando 15 mL de uma solução de Metanol com 5% de ácido sulfúrico anidro. O sistema ficou em agitação por 30 min, após 1 hora adicionou-se de 20 mL Diclorometano PA de. O sistema continuou em agitação, com um período total de aproximadamente 20 horas, entretanto na literatura o tempo estimado deste tipo de reação é 4-6 horas.

Figura 1 - Reação de esterificação entre o diclofenaco e o álcool metanol.

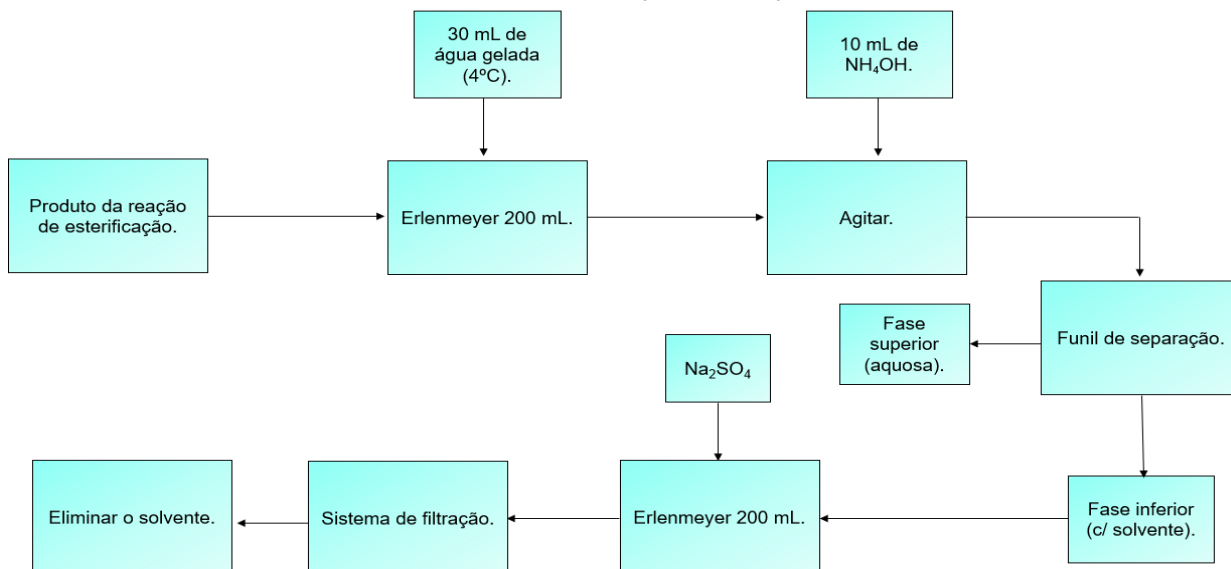


Fonte: Elaborado pelas autoras (2023).

A etapa seguinte (Figura 2) consistiu em neutralizar o meio reacional. Empregou-se 100 mL de água gelada e 10 mL de Hidróxido de amônio e foi observado um pH igual a 10. Em seguida, realizou-se uma partição em um funil de separação, sendo o produto inserido juntamente com Diclorometano PA. A fase inferior foi coletada em um Erlenmeyer e sulfato de sódio anidro foi adicionado para retirar quaisquer traços de água. Por fim, o produto foi filtrado e eliminou-se o solvente.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

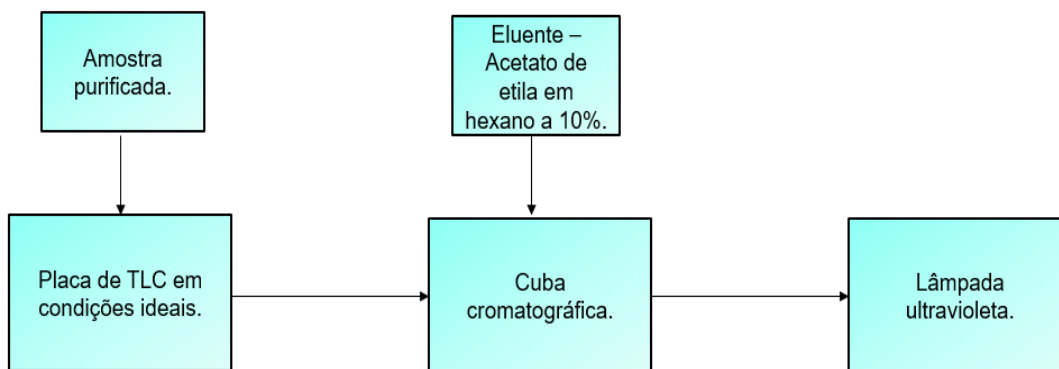
Figura 2 - Purificação por partição.



Fonte: Elaborado pelas autoras (2023).

A fim de verificar os compostos existentes no produto realizou-se uma cromatografia em TLC (Figura 3). Uma amostra do produto foi eluída com uma solução de Hexano com 10% de Acetato de Etila em uma placa e uma lâmpada ultravioleta (254 nm) foi utilizada para revelar o resultado da análise.

Figura 3 - Purificação por cromatografia em TLC.

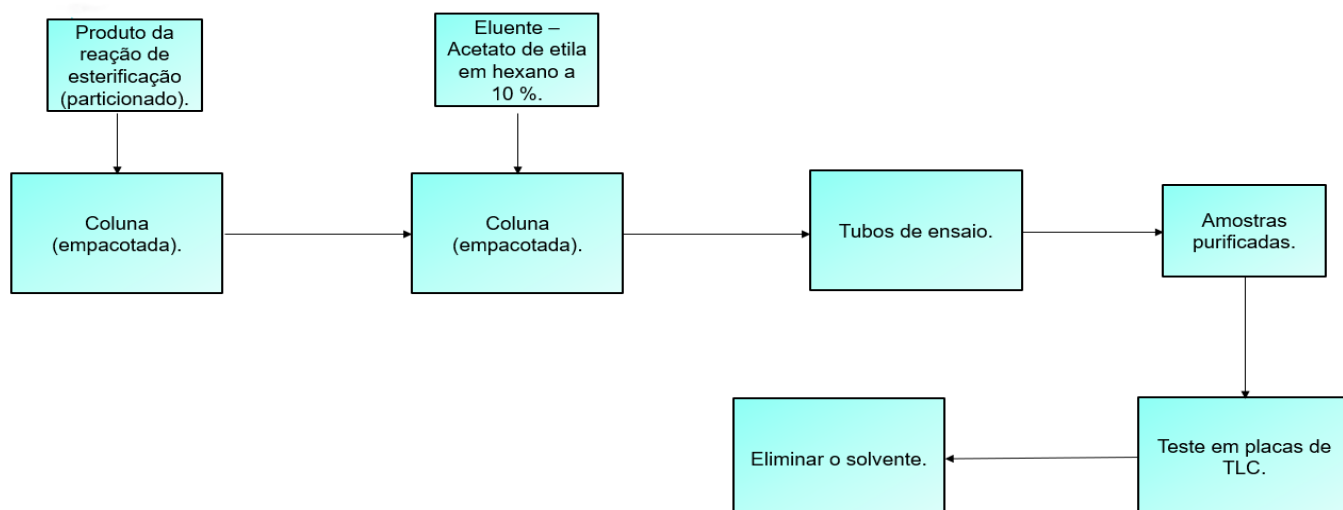


Fonte: Elaborado pelas autoras (2023).

Uma cromatografia em coluna (Figura 4) utilizando sílica e Acetato de Etila em Hexano 10% como fase móvel foi realizada para obter um produto purificado. O processo foi acompanhado com placas de TLC para determinar o ponto de parada.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 4 - Purificação por cromatografia em coluna.



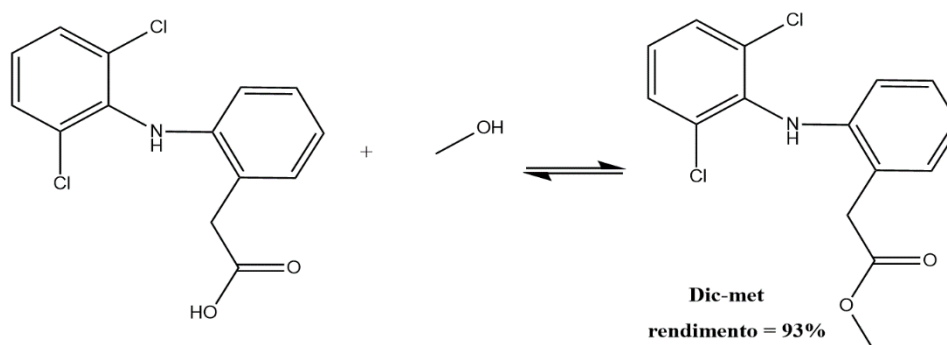
Fonte: Elaborado pelas autoras (2023).

Com o produto obtido realizou-se uma caracterização por ressonância magnética nuclear de prótons (RMN  $^1\text{H}$ ) a fim de determinar a estrutura do éster obtido. Na caracterização 2 mg do produto em 0,7 mL de  $\text{CDCl}_3$  foram utilizados no equipamento Bruker AIII 500 MHz.

## Resultados

A partir do protocolo executado obteve-se um produto com massa de 0,465 g que recebeu a denominação de Dic-met. Utilizou-se do software ChemDraw para desenhar a estrutura que o produto apresenta, seguindo o mecanismo da esterificação de Fisher (Figura 5). Ainda com o software, estudou-se a estequiometria da reação, buscando calcular o rendimento da reação.

Figura 5 - Reação diclofenaco e metanol.

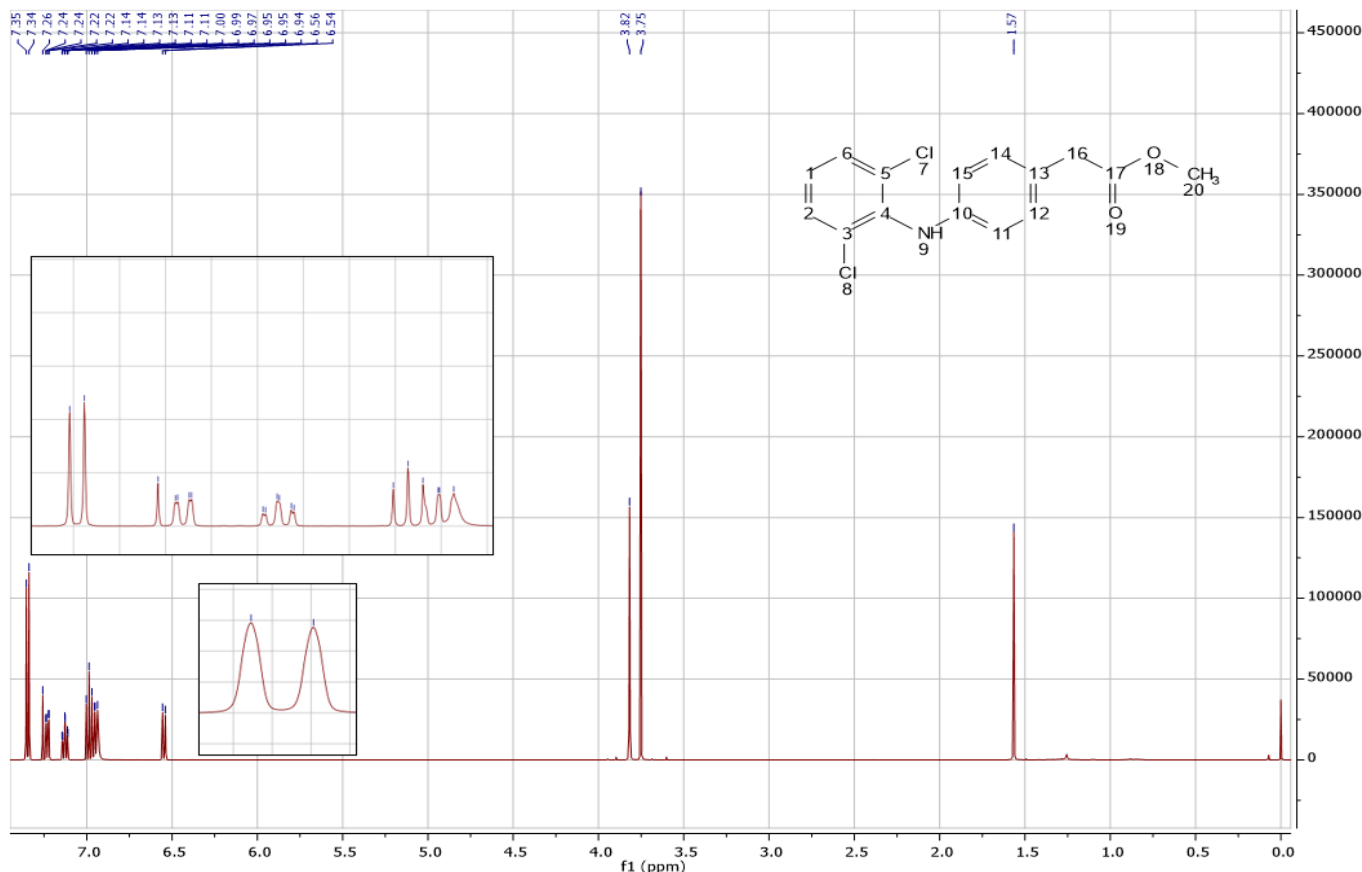


Fonte: Elaborado pelas autoras (2023).

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Para confirmar a estrutura do produto resultante solicitou-se uma caracterização por RMN  $^1\text{H}$  (Figura 6), pois é uma importante ferramenta de comprovação estrutural.

Figura 6 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do Dic-met.



Fonte: Elaborado pelas autoras (2023).

O espectro apresentado foi adquirido do Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo e posteriormente analisado pelo software MestReNova.

O composto Dic-met, que recebe o nome conforme as regras IUPAC methyl 2-(4-((2,6-dichlorophenyl)amino)phenyl)acetate, foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$ : RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,35 (d, 2H,  $J = 8,1$  Hz, H-2 e H-6); 7,23 (dd, 1H,  $J = 7,5$ ,  $J = 1,3$  Hz, H-14); 7,13 (td, 1H,  $J = 7,9$  Hz,  $J = 1,4$  Hz, H-12); 6,97 (m, 2H, H-15 e H-11); 6,94 (s, 1H, H-9); 6,55 (d, 1H,  $J = 8,0$  Hz, H-1); 3,82 (s, 2H, H-16 $^2$ ); 3,75 (s, 3H, H-20 $^3$ ); 1,57 (HDO).

## Discussão

O produto obtido resultou de um processo de esterificação de Fisher, em que o mecanismo reacional é uma substituição nucleofílica. O diclofenaco possui um grupo funcional ácido carboxílico que reage com o metanol formando um éster (Dic-met), de modo que o meio reacional ácido favorece a formação dos produtos, sendo um catalisador na reação (utilizou-se ácido sulfúrico).

O composto apresentou a formação de cristais indicando um alto grau de pureza, sendo um parâmetro de qualidade para a área da farmacologia. Os cálculos de rendimento confirmam que a síntese resultou em 93% de conversão do diclofenaco iônico no éster Dic-met.

A estrutura do composto foi confirmada pela análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 5), de modo que observa-se: o sinal 7,35 ppm referente a dois hidrogênios, sendo estes H-2 e H-6 de modo que a constante de acoplamento ( $J$ ) de valor igual a 8,1 Hz característico da posição orto no anel aromático por sua vez, a multiplicidade é um dublete decorrente da interação com um hidrogênio vizinho; o sinal 7,23 ppm referente a um hidrogênio, sendo este H-14 de modo que  $J$  tem valor igual a 7,5 Hz

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

característico da posição orto no anel aromático, entretando a interação em meta resulta em um segundo valor de J igual a 1,3 Hz simbolizando uma multiplicidade de dublete duplo; o sinal 7,13 ppm referente a um hidrogênio, sendo este H-12 de modo que J tem valor igual a 7,9 Hz característico da posição orto no anel aromático, entretando a interação em meta resulta em um segundo valor de J igual a 1,4 Hz simbolizando uma multiplicidade de tripleto (interação com dois hidrogênios vizinhos) duplo; o sinal 6,97 ppm referente a dois hidrogênios, sendo estes H-15 e H-11 de modo que a multiplicidade resulta em um multipletto decorrente da divisão próxima de vários picos; o sinal 6,94 ppm referente a um hidrogênio, sendo este H-9 de modo que a multiplicidade seja um singlete significando que não há outros hidrogênios de interação; o sinal 6,55 ppm referente a um hidrogênio, sendo este H-1 de modo que J tem valor igual a 8,0 Hz característico da posição orto no anel aromático por sua vez, a multiplicidade é um dublete decorrente da interação com um hidrogênio vizinho; o sinal 3,82 ppm referente a dois hidrogênios, sendo estes H-16<sup>2</sup> de modo que a multiplicidade seja um singlete; o sinal 3,75 ppm referente a três hidrogênios, sendo estes H-20<sup>3</sup> de modo que a multiplicidade seja um singlete; o sinal 1,57 ppm que é referente aos hidrogênios da molécula de água deuterada no espectro.

## Conclusão

A derivatização esterificada de medicamentos é um tópico de estudo dentro da área da farmacologia, sendo uma metodologia de melhoria na atividade e controle da toxicidade de fármacos como a classe dos AINEs que apresentam diversos efeitos adversos. O presente estudo utilizou-se de um protocolo simples, esterificação de Fisher, para sintetizar uma formulação derivatizada esterificada do diclofenaco para uma aplicação de uso tópico.

A partir do procedimento experimental o produto resultante foi purificado por partição, cromatografia em TLC e coluna. O sintetizado foi analisado por caracterização RMN <sup>1</sup>H e confirmou-se a estrutura proposta desenvolvida no software ChemDraw. O cálculo do rendimento (93%) e a característica cristalina do éster resultante comprovam o alto grau de pureza do composto obtido.

Portanto, a partir das análises realizadas, o protocolo estabelecido utilizando-se do mecanismo de esterificação de Fisher apresentou alto potencial na conversão do diclofenaco em uma formulação derivatizada.

A lacuna deste estudo é a realização de uma formulação tópica com o sintetizado adquirido.

## Referências

BOTTING, R. M; VANE, J. R. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **Scandinavian journal of rheumatology**, v. 25, s. 102, 9–21, 1996.

GAN, T. J. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. **Current Medical research & opinion**, v. 26, n. 7, 2010.

HINZ, B; BRUNE, K. Cyclooxygenase-2---10 years later. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 300, n. 2, 2001.

KHANDARE, J.; MINKO, T. Polymer–drug conjugates: progress in polymeric prodrugs. **Progress in polymer science** v. 31, 359–397, 2006.

NEEDLEMAN, P. *et al.* The induction and suppression of prostaglandin H<sub>2</sub> synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. **Journal of biological chemistry**, v. 265, n. 28, 1990.

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature new biology**, v. 231, n. 25, 232–235, 1971.

WALLACE, J. L. *et al.* NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. **Gastroenterology**, v. 119, n. 3, 706–714, 2000.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi desenvolvido nas dependências da Base Verde com os insumos patrocinados através do projeto PIPE/FAPESP 2019/16380-3.