

Síntesis y caracterización de dos cocristales derivados del ácido gálico y metilxantinas con posibles aplicaciones farmacéuticas

Barrios Alfaro Gema¹, Bernès Fluoriot Sylvain Jean², Varela Caselis Jenaro³, Cerón Rivera Margarita⁴
Percino Zacarías María Judith⁴, Sosa Rivadeneira Martha Virginia^{1*}

¹Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). 14 Sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México.

²Instituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (IFBUAP). Av. San Claudio y Blvd. 18 Sur, Col. San Manuel 72570, Puebla, México.

³Centro Universitario de Vinculación y Transferencia Tecnológica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, C.U., C.P. 72001, Puebla Pue. México.

⁴Unidad de Polímeros y Electrónica Orgánica, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Val3-Ecocampus Valsequillo, Independencia 02 Sur 50, San Pedro Zacachimalpa, C.P. 72960 Puebla, México.

*Autor para correspondencia: martha.sosa@correo.buap.mx

Recibido:

20/julio/2019

Aceptado:

07/agosto/2019

Palabras clave:

Cocristales, ácido gálico, metilxantinas

Keywords:

Cocrystals, gallic acid, methylxanthines

RESUMEN

En este trabajo se presenta el estudio de dos cocristales derivados del ácido gálico y metilxantinas (teobromina y teofilina) que fueron preparados y caracterizados por difracción de rayos X de polvos y de monocristal, espectroscopía IR y mediciones TGA/DSC. Este estudio contempló aplicar dos metodologías de síntesis: cristalización por evaporación y *slurry*. Los estudios de difracción de rayos X de monocristal nos revelaron que obtuvimos dos cristales moleculares con posibles aplicaciones farmacéuticas: **GA1** (teobromina/ácido gálico/H₂O) que cristalizó en un sistema monoclinico y grupo espacial *C2/c* y **GA2** (teofilina/ácido gálico) que cristalizó en un sistema triclinico con grupo espacial *P-1*. La síntesis de estos compuestos fue fácilmente reproducible por el método de *slurry*.

ABSTRACT

This paper presents the study of two cocrystals derived from gallic acid and methylxanthines (theobromine and theophylline) that were prepared and characterized by single-crystal and powder X-ray diffraction, IR spectroscopy and TGA/DSC measurements. This study contemplated applying two synthesis methodologies: crystallization by evaporation and from the slurry. The single crystal X-ray crystallographic study revealed that we obtained two molecular crystals with possible pharmaceutical applications: **GA1** (theobromine/gallic acid/H₂O) that crystallized in a monoclinic system and space group *C2/c* and **GA2** (theophylline/gallic acid) which crystallized in a triclinic system with space group *P-1*. The synthesis of these compounds was easily reproducible by the slurry method.

Introducción

En la industria farmacéutica los cocrystalos juegan un papel importante en el diseño de nuevos sólidos con propiedades físicas y químicas deseadas como medida para mejorar las propiedades de diferentes principios activos como la solubilidad, la estabilidad y la biodisponibilidad sin alterar la composición química de los mismos.

Diferentes metodologías se han usado para la formación de cocrystalos, siendo las más comunes en solución y molienda (Prasad et al., 2012). Generalmente los cocrystalos son preparados por evaporación lenta del disolvente, sin embargo, se tiene como limitación la baja solubilidad de los componentes en un disolvente dado o mezcla de disolventes. De esta forma, técnicas alternativas utilizadas en la industria farmacéutica para la obtención de cocrystalos son la molienda, la molienda asistida (cantidades catalíticas de disolvente) y el *slurry*, las cuales se caracterizan por ser metodologías limpias y verdes (Braga et al., 2013).

Por otro lado, las metilxantinas son compuestos que se encuentran en una gran variedad de productos que se consumen a diario, como té, café, chocolate; sin embargo, existen mitos sobre los posibles efectos tóxicos que se presentan por el consumo excesivo de estos productos, lo que ha llevado a la sociedad a disminuir la ingesta de estos. Diversas investigaciones se han enfocado en estudiar las diferentes propiedades farmacológicas de estas metilxantinas, por ejemplo, la teobromina ha mostrado significativamente menos actividad en el SNC (sistema nervioso central) que la cafeína y la teofilina, posiblemente debido a las propiedades fisicoquímicas que dificultan su distribución en el SNC. En cuanto a la teofilina, se mostró prometedora como estimulante del SNC, aunque actualmente se utiliza en la terapia de enfermedades respiratorias como el asma (Monteiro et al., 2016).

Fischer y colaboradores realizaron un estudio de un cocrystal formado por teobromina y ácido oxálico (Fischer et al., 2015). Debido a la baja solubilidad de la teobromina, el cocrystal no pudo obtenerse por cristalización en solución por lo que el estudio realizado en este reporte fue a partir de los polvos obtenidos de la molienda de ambos componentes. La resolución de la estructura se realizó a través del análisis de los datos obtenidos de la difracción de rayos X en polvos. A partir de este trabajo, los autores concluyeron que estos datos experimentales proveen una herramienta factible para la caracterización de reacciones mecanoquímicas. Por otra parte, Lu y Rohani realizaron un estudio de un cocrystal obtenido a partir de la teofilina y la nicotinamida (Lu y Rohani, 2009; Ervasti et al., 2015). En este caso, los autores demostraron que la teofilina y la nicotinamida

pueden formar un cocrystal en una relación molar de 1:1 mediante molienda en estado sólido y por solución con la evaporación lenta de etanol. Encontraron que, en comparación con la teofilina anhidra, el cocrystal es más soluble y tiene una mayor higroscopicidad.

Debido a nuestro interés para las propiedades farmacológicas de las metilxantinas y a los antecedentes encontrados en la literatura nos dimos a la tarea de sintetizar, caracterizar y estudiar nuevas fases cristalinas derivadas de ácido gálico con la teobromina y la teofilina, las cuales pueden tener posibles aplicaciones farmacéuticas. Después de realizar un *screening* de cristalizaciones por evaporación lenta del disolvente (acetona, metanol, etanol, acetonitrilo y agua) obtuvimos dos nuevos cocrystalos los cuales fueron caracterizados por difracción de rayos X de polvos y de monocristal, espectroscopia IR y análisis térmico TGA/DSC.

Metodología

Reactivos

Los reactivos y disolventes se adquirieron de la compañía Sigma-Aldrich Co., y se utilizaron sin previa purificación.

Instrumentación

El análisis por difracción de rayos-X de polvos se llevó a cabo en el modo de transmisión en un equipo de difracción Bruker D8-Advance equipado con un detector LynxEye ($\lambda_{Cu-K\alpha}=1.5406 \text{ \AA}$, monocromador: germanio). El equipo fue operado a 40 kV y 40 mA y los datos fueron colectados a temperatura ambiente en el rango de $2\theta=5-50^\circ$ (tamaño de paso 0.011° , tiempo de paso 10 s). La difracción de Rayos X de monocristal (Tabla 1) se llevó a cabo en un equipo de difracción Stoe Stadivari equipado con una microfuelle Axo ($\lambda_{Ag-K\alpha}=0.56083 \text{ \AA}$; 65 kV, 0.6 mA) y un detector Dectris Pilatus-100K. Las intensidades de difracción se midieron a temperatura ambiente, hasta una resolución $(\text{sen}\theta/\lambda)_{\text{max}}=0.64 \text{ \AA}^{-1}$.

Los espectros de infrarrojo se midieron en un espectrofotómetro Bruker Vector 22FT y se midieron en el intervalo de $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ directamente del material sintetizado.

El análisis termogravimétrico y de calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC) se realizó en un equipo NETZSCH STA 449 F3 *Jupiter* y se llevó a cabo a una velocidad de calentamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ en un rango de temperatura de $20-600^\circ\text{C}$ usando una corriente de nitrógeno ($50 \text{ mL}/\text{min}$).

Experimentación

En un vial provisto de barra magnética se pesaron el ácido gálico y la respectiva metilxantina en una relación molar 1:1. Con asistencia de algunas gotas del disolvente

seleccionado (metanol o acetona) se puso en agitación hasta formar una masa. Se tapó el vial y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante dos horas. Después de este lapso, se retiró la agitación y se dejó el vial abierto dejando evaporar el disolvente por completo hasta obtener los polvos.

Cristalización

En un vial se pesaron 10 mg de los polvos obtenidos en el *slurry* y 6 mL del disolvente seleccionado (agua o acetonitrilo). Con ayuda de una barra magnética se puso en agitación y calentamiento hasta solubilizar por completo la mezcla. Posteriormente la solución se filtró en un nuevo vial y se tapó con una tela porosa que permitiera una evaporación lenta del disolvente hasta la obtención de los sólidos cristalinos.

Resultados y discusión

Análisis por difracción de rayos X de monocristal

Los datos cristalográficos para ambos cocrystal se encuentran resumidos en la Tabla 1.

El compuesto denominado **GA1** reportado previamente en la literatura (Clarke et al.), cristalizó de una solución de los polvos obtenidos en el *slurry* en agua. El análisis estructural del cocrystal **GA1** permitió confirmar que cristaliza en un sistema monoclinico y grupo espacial *C2/c*. La unidad asimétrica se encuentra compuesta por el ácido gálico, la teobromina y agua en una relación 1:1:2, con una molécula de agua desordenada sobre dos sitios (Figura 1).

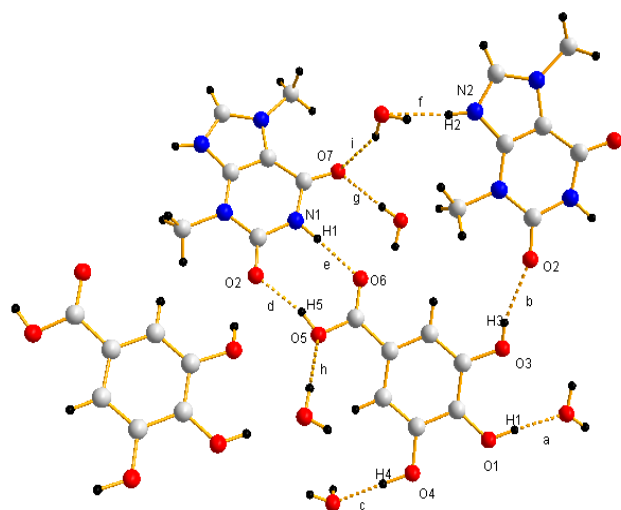


Figura 1. Estructura cristalina para **GA1**.

En este cocrystal, una molécula de teobromina se encuentra unida a una molécula de ácido gálico mediante un doble puente formado por dos enlaces de hidrógeno: **e** (N1H1...O6, 1.877 Å) y **d** (O5H5...O2, 1.827 Å). A su vez,

el ácido gálico se encuentra enlazado con otra molécula de teobromina por un enlace de hidrógeno de tipo **b** (O3H3...O2, 2.078 Å). A través de la red cristalina se pueden observar los diferentes enlaces de hidrógeno que forma el agua con los componentes del cocrystal. Con el ácido gálico se encuentran los enlaces formados con agua: **a** (O1H1...OH₂, 1.808 Å), **c** (O4H4...OH₂, 1.783 Å) y **h** (O5...HOH, 2.350 Å). La teobromina forma los enlaces **f** (N2H2...OH₂, 2.154 Å), **g** (O7...HOH, 2.047 Å) e **i** (O7...HOH, 2.154 Å).

Tabla 1. Datos cristalográficos para los compuestos **GA1** y **GA2**.

Datos ^a cristalográficos	GA1	GA2
Fórmula	C ₁₄ H ₁₉ N ₄ O ₉	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₇
PM (g mol ⁻¹)	387.225	350.29
Sistema	monoclinico	triclinico
Grupo	<i>C2/c</i>	<i>P-1</i>
Tamaño del cristal/mm ³	0.400 x 0.200 x 0.080	0.354 x 0.252 x 0.178
Forma/color	Prisma/amarillo	Lamina/incoloro
Temp. (K)	295 K	295 K
<i>a</i> (Å)	27.758(2)	7.4918(5)
<i>b</i> (Å)	6.7639(3)	7.9709(5)
<i>c</i> (Å)	17.4304(15)	12.6243(8)
α (°)	90	80.183(5)
β (°)	93.107(7)	84.708(5)
γ (°)	90	86.620(5)
<i>V</i> (Å ³)	3267.8(4)	738.95(8)
<i>Z</i>	8	2
μ (mm ⁻¹)	0.080	0.078
ρ_{calcd} (g cm ⁻³)	1.575	1.574
Ratio Datos / parámetros	3654 / 309	3241 / 243
<i>R</i> ₁ ^[b, c]	0.0659	0.0470(2352)
<i>wR</i> ₂ ^[d, e]	0.2056	0.1393(3241)
<i>GOF</i>	1.060	1.010

^a $\lambda_{\text{AgK}\alpha} = 0.56083 \text{ \AA}$. ^b $I > 2\sigma(I)$. ^c $R = \sum ||F_0| - |F_c|| / \sum |F_0|$. ^dTodos los datos. ^e $wR = [\sum w (F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w (F_o^2)]^{1/2}$

Por otro lado, el análisis estructural del cocrystal **GA2**, nos reveló que cristalizó en un sistema triclinico con grupo espacial *P-1*. La unidad asimétrica se encuentra compuesta por una molécula de teofilina y una de ácido gálico (Figura 2).

Se puede observar que dos moléculas de teofilina se encuentran unidas mediante un doble puente formado por enlaces de hidrógeno del tipo **a** (N1H1...O8, 1.845 Å).

De forma similar, dos moléculas de ácido gálico se encuentran unidas mediante un doble puente formado por los enlaces de tipo **b** (O14H14...O18, 1.847 Å). Las moléculas del ácido gálico se unen a las de la teobromina mediante los enlaces de tipo **c** (O16H16...O6, 1.808 Å) y tipo **d** (O19H19...N3, 1.711 Å).

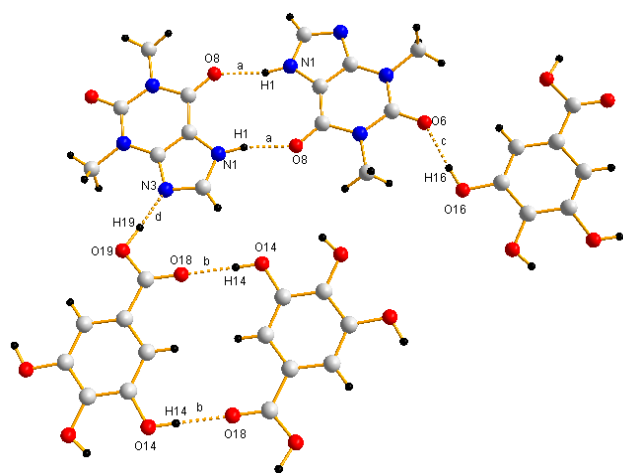


Figura 2. Estructura cristalina para GA2.

Análisis por difracción de rayos X de polvos

Los patrones de difracción de rayos X de polvos (PXRD) de los productos resultantes **GA1** (ácido gálico/teobromina) y **GA2** (ácido gálico/teofilina) se compararon con los patrones de difracción de rayos X de polvos simulados obtenidos a partir del estudio de Rayos X de monocristal (Figura 3). Se pudo observar que por *slurry* tanto para **GA1** como para **GA2**, se lograron obtener las mismas fases cristalinas que por cristalización.

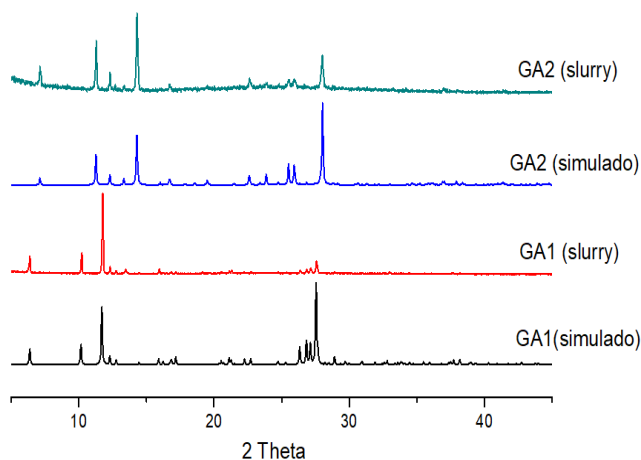


Figura 3. Comparación entre los patrones de difracción de rayos X de polvos de los productos de molinada **GA1** y **GA2** con los patrones de DRXP simulados a partir de la DRXS de los monocristales.

Análisis por espectroscopía IR

Los compuestos obtenidos de los *slurrys* se estudiaron por espectroscopía IR. Para los compuestos **GA1** y **GA2** se observan bandas que indican la presencia de un nuevo compuesto (Figura 4).

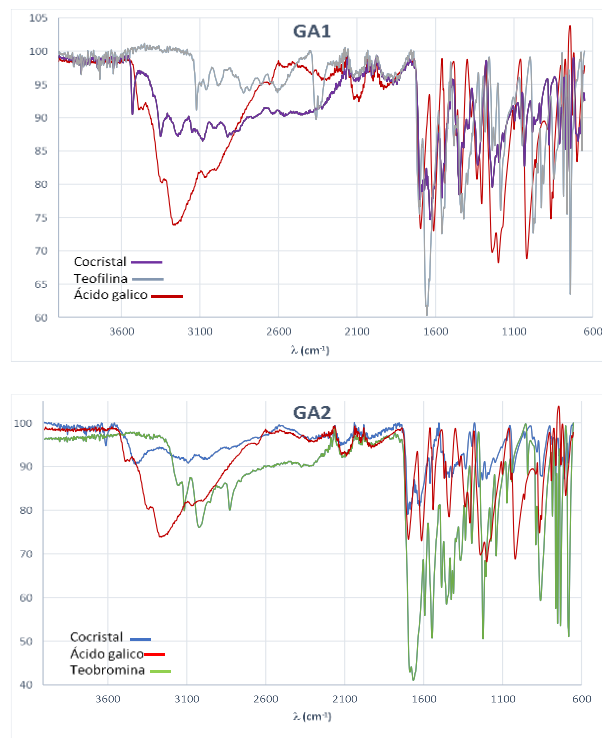


Figura 4. Comparación de los espectros de IR de los reactivos y de los cristales moleculares **GA1** y **GA2**.

Las bandas correspondientes a los grupos C=O de las amidas en la teofilina (1655 cm⁻¹), la teobromina (1665 cm⁻¹) y el ácido gálico (1695 cm⁻¹, 1626 cm⁻¹) se encuentran desplazadas para los cocristales **GA1** (1700 cm⁻¹, 1635 cm⁻¹) y **GA2** (1680 cm⁻¹, 1625 cm⁻¹). Estos cambios pueden ser atribuidos a la participación del grupo carbonilo en la formación de los enlaces de hidrógeno en los cocristales.

El análisis termogravimétrico y de calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)

El comportamiento térmico para el cocristal **GA1** se muestra en la figura 5a. La gráfica DSC muestra un pico endotérmico a 100°C que corresponde al proceso de deshidratación y en la curva TGA se observa una pérdida de masa (9%) que es comparable a la pérdida de dos moléculas de agua (calc. 9.3%). La subsecuente pérdida de masa puede ser atribuida al proceso de degradación de una molécula de ácido gálico (44.8%, calc. 44.04%). Ya que los puntos de sublimación ocurren a 261°C para el ácido gálico y a 344°C para la teobromina, se puede sugerir que estos procesos van acompañados de otros

procesos de transformación sólido-sólido (picos endotérmicos a 270°C y 318°C) atribuidos a la disociación del cocrystal. La grafica TGA/DSC para **GA2** se muestra en la figura 5b.

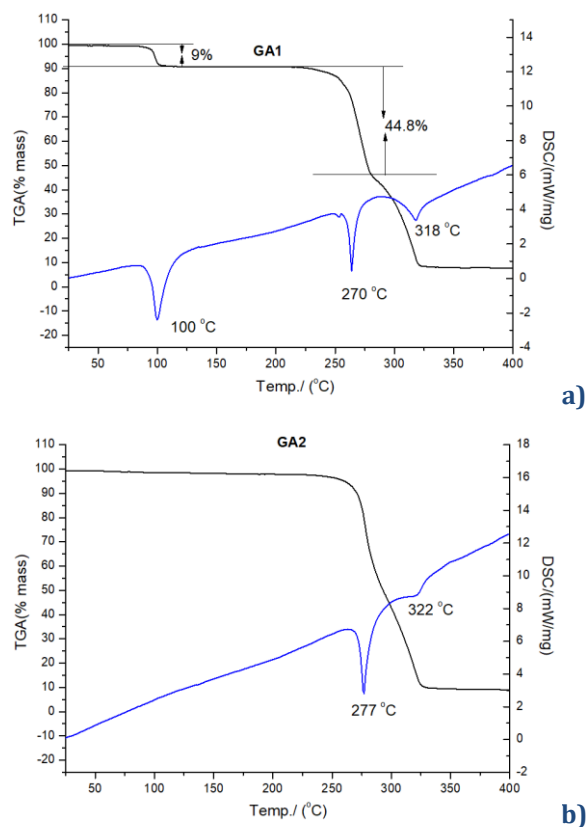


Figura 5. Termogramas TGA/DSC para los cocristales **GA1** y **GA2**.

En la curva TGA se empieza a observar pérdida de masa a aproximadamente 260°C atribuido al proceso de degradación del cocrystal. Debido a que los puntos de sublimación ocurren a 261°C para el ácido gálico y a 270°C para la teofilina, se puede proponer que estos procesos también van acompañados de otros procesos de transformación sólido-sólido (picos endotérmicos a 277°C y 322°C) atribuidos también a la disociación del cocrystal.

Conclusiones

Se lograron obtener y caracterizar dos cocristales derivados del ácido gálico y las metilxantinas (teobromina y teofilina), uno nuevo y uno previamente reportado en la literatura. La síntesis de estos compuestos es fácilmente reproducible por la técnica de *slurry*, la cual ocupa una mínima cantidad de disolvente contribuyendo así a la síntesis verde de cocristales.

El siguiente objetivo es realizar las pruebas de solubilidad y actividad farmacológica de estos compuestos.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Químicas y al Dr. Jesús Sandoval Ramírez por las facilidades prestadas para la realización de los análisis de IR. El proyecto CONACyT 268178 permitió el estudio de monocristales.

Referencias

- Braga D., Maini L., Grepioni F. (2013). Mechanochemical preparation of co-crystals. *Chem. Soc. Rev.* 42, 7638-7648.
- Clarke H. D., Arora K. K., Bass H., Kavuru P., Ong T. T., Pujari T., Wojtas L., Zaworotko M. J. (2010). Structure-Stability Relationships in Cocrystal Hydrates: Does the Promiscuity of Water Make Crystalline Hydrates the Nemesis of Crystal Engineering? *Cryst. Growth Des.* 10, 2152-2167.
- Cherukuvada S., Kaur R., N. Guru Row T. (2016). Co-crystallization and small molecule crystal form diversity: from pharmaceutical to materials applications. *CrystEngComm.* 18, 8528-8555.
- Ervasti T., Aaltonen J., Ketolainen J. (2015). Theophylline-nicotinamide cocrystal formation in physical mixture during storage. *International Journal of Pharmaceutics* 486, 121-130
- Fischer F., Scholz G., Batzdorf L., Wilkeab M. and Emmerling F. (2015). Synthesis, structure determination, and formation of a theobromine: oxalic acid 2:1 cocrystal. *CrystEngCom.* 17, 824-829.
- Lu J., Rohani S. (2009). Preparation and Characterization of Theophylline-Nicotinamide Cocrystal. *Org. Process. Res. Dev.* 13, 1269-1275.
- Monteiro J. P., Alves M. G., Oliveira P. F., Silva B. M. (2016) Structure-Bioactivity Relationships of Methylxanthines: Trying to Make Sense of All the Promises and the Drawbacks. *Molecules* 974, 1-32.
- Prasad R. V., Rakesh M. G., Jyotsna R. M., Mangesh S. T., Anita P. S., Mayur P. K. (2012). Pharmaceutical cocrystallization: a review. *IJPCS.* 1, 725-736.