

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

PAULO NUNES DE SOUZA

Reposicionamento farmacêutico do fármaco Aciclovir: Novos sais

São Carlos

2024

PAULO NUNES DE SOUZA

Reposicionamento farmacêutico do fármaco Aciclovir: Novos sais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Física Aplicada
Opção: Física Biomolecular
Orientador: Prof. Dr. Javier Ellena

Versão Corrigida

(versão original disponível na Unidade que aloja o Programa)

São Carlos

2024

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Souza, Paulo Nunes de
Reposicionamento farmacêutico do fármaco Aciclovir:
Novos sais / Paulo Nunes de Souza; orientador Javier
Ellena - versão corrigida -- São Carlos, 2024.
88 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Física Aplicada Biomolecular) -- Instituto de Física de São
Carlos, Universidade de São Paulo, 2024.

1. Reposicionamento farmacêutico. 2. Difração de raio
X. 3. COVID-19. 4. Sais farmacêuticos. I. Ellena, Javier,
orient. II. Título.

*Dedico este trabalho, sobretudo a aqueles que
durante a noite foram luz.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a todos que estão comigo neste caminho, desde o início da estrada em 2014, especialmente vocês Beatriz, Marco, Caue, Karoline, Thawan, Leonardo, Hesro, Amanda, Luciano, Sara, Felipe e Eduardo sem vocês definitivamente nada disso seria realidade.

Agradeço também ao Instituto de Física de São Carlos pela oportunidade de aperfeiçoamento, em especial ao Prof. Dr. Javier Ellena pela orientação, disposição, incentivo e paciência nessa estrada, mostrando que além de um excelente profissional é possível ser também uma ótima pessoa.

Aos amigos que tive a honra de conhecer e se tornaram parte da minha vida, de quem com enorme felicidade recebo tanto apoio e carinho: Pedro, Tayla, Kemuel, Sofia, David, , Diogo, Karolina, Tulio, Lucas, João, Augusto, Ailton, Alfredo, Cecília e tantos outros mais, muito obrigado!

Gostaria também de agradecer a minha família, especialmente minhas avó, mãe e irmã que me garantiram a esperança de dias melhores, e demais amigos por todo o apoio.

“Nós Fazemos o Futuro”

Ekko, League of Legends

RESUMO

NUNES, P. S. **Reposicionamento farmacêutico do fármaco Aciclovir: Novos sais.** 2024. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2024.

Reposicionamento farmacêutico está se tornando uma excelente estratégia em termos de oferecer vantagens sobre o desenvolvimento tradicional de medicamentos, uma vez que a descoberta de fármacos é um processo caro, demorado e altamente arriscado. Com a chegada do coronavírus (COVID-19), declarada pela Organização Mundial da Saúde como uma patologia pandêmica, surgiu uma enorme necessidade de desenvolver agentes terapêuticos capazes de prevenir surtos de vírus. Concomitantemente, drogas conhecidas e usadas há muito tempo, como o aciclovir (ACV), foram testadas contra o COVID-19. ACV é uma droga antiviral análoga de guanosina, comumente usada para tratar o vírus herpes simplex (HSV), herpes genital e vírus varicela zoster (VZV). Os testes clínicos realizados oportunamente mostraram que o ACV inibe a proteases virais, expressões genéticas múltiplas virais e RNA-dependente e RNA-polymerase, ajudando assim na recuperação de pacientes com COVID-

19. No entanto, o ACV é uma droga classe III/IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, apresentando baixa permeabilidade e/ou solubilidade aquosa (dependente da concentração). Dentro deste contexto, neste trabalho são apresentadas quatro novos sais de ACV (um sal nitrato, dois sais brometo e um sal hidrogenosulfato), visando melhorar suas propriedades farmacocinéticas. Os novos sais foram avaliados por difração de raios X, análises térmicas, técnicas espectroscópicas, assim como estudos de solubilidade. O sal cloreto, já reportado na literatura, também foi caracterizado e utilizado para comparação.

Palavras-chave: Reposicionamento farmacêutico. Difração de raios X. COVID-19. Sais farmacêuticos.

ABSTRACT

NUNES, P. S. **Drug repurposing of the drug Acyclovir: New salts**. 2024. 88 p. Dissertation (Master in Science) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2024.

Drug repurposing is becoming a good strategy in terms of offering advantages over the traditional drug development, once drug discovery is a costly, time-consuming, and highly risky process. Particularly, with the Coronavirus disease (COVID-19), declared by World Health Organization as pandemic, there emerged a huge need to develop therapeutic agents capable of preventing virus outbreaks. Concomitantly, well known and long used drugs, such as acyclovir (ACV), were allowed to be tested against COVID-19. ACV is a well-known antiviral drug, guanosine analogue, commonly used to treat herpes simplex virus (HSV), genital herpes, and varicella zoster virus (VZV). ACV showed to inhibit viral proteases, multiple viral gene expressions, RNA-dependent and RNA-polymerase, helping toward COVID-19 patients' recovery. However, ACV is a BCS class III/IV drug, with low permeability and/or slight water solubility (concentration dependent). Within this framework, in this work three new inorganic salts with this drug are presented (one nitrate, two bromides and one sulfate), aiming to improve its pharmacokinetics properties. The new salts were evaluated by X-ray diffraction, thermal, and spectroscopic analyses. A fifth salt, the chloride one, was also characterized and used for comparison.

Keywords: Drug repurposing. X-ray diffraction. COVID-19. Pharmaceutical salts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura de um vírus da subfamília <i>Coronavirinae</i>	21
Figura 2 -	Estrutura viral do Sars-CoV	22
Figura 3 -	Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do nitrato de aciclovir com numeração atômica e elipsoides térmicos representando a 50% de probabilidade.....	40
Figura 4 -	Empacotamento cristalino do HACV·NO ₃ . (a) Arranjo supramolecular 2D visto através do plano bc (b) interações $\pi \cdots \pi$ formando um arranjo dimérico (c) Sinton supramoleculares do tipo $R_3^3(10)$, $R_2^3(9)$ e $C_1^2(9)$, envolvendo as interações das moléculas de ACV ⁺ mediadas pelos ânions NO ₃ ⁻	41
Figura 5 -	Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do Hidrogeno-Sulfato de aciclovir com numeração atômica e elipsoides térmicos representando a 50% nível de probabilidade.....	42
Figura 6 -	Empacotamento cristalino do HACV·HSO ₄ (a) visão do plano ac (b) visto do plano bc (c) Representação gráfica dos três motivos $R_2^2(8)$, envolvendo a interação das moléculas de ACV ⁺ mediadas por HSO ₄	43
Figura 7 -	Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do cloridrato de aciclovir com numeração atômica e elipsoides térmicos representando a 50% de probabilidade.....	43
Figura 8 -	Empacotamento cristalino do HACV·Cl. (a) Arranjo supramolecular 2D visto através do plano bc (b) Visualização gráfica dos motivos $R_2^2(16)$, e $R_1^2(6)$, envolvendo as interações entre as moléculas de ACV ⁺ mediadas por Cl ⁻ (c) interações $\pi \cdots \pi$ formando o arranjo dimérico.....	44
Figura 9 -	Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do bromidrato de aciclovir, grupo espacial P-1, com numeração atômica e elipsoides térmicos representando a 50% de probabilidade.....	46
Figura 10 -	Empacotamento cristalino do HACV·Br (P-1). (a) Arranjo supramolecular visto através do plano bc (b) Ilustração da cadeia de cátions ACV ⁺ mediadas	47

	pelos Sintons de motivo $R_2^2(9)$ (c) Ligações N–H···Br e N–H···O entre os planos.....	
Figura 11 -	Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do bromidrato de aciclovir, grupo espacial Cc, com numeração atômica e elipsoides térmicos representando a 50% de probabilidade.....	47
Figura 12 -	Empacotamento cristalino do HACV·Br (Cc). (a) Arranjo supramolecular visto através do plano ac (b) Ilustração da cadeia de cátions Acv+ mediadas pelos sintons de representação gráfica $R_2^2(9)$ (c) Ligações N–H···Br e N–H···O de conexão entre os planos.....	48
Figura 13 -	Estrutura molecular do Aciclovir (ACV) evidenciando ângulos de torção δ , χ e τ	48
Figura 14 -	Comparação das conformações apresentadas pela molécula de ACV nas diferentes formas sólidas.....	49
Figura 15 -	Desenho 2D estrutural do fármaco aciclovir, indicando o esquema de nomenclatura adotado nas análises realizadas.....	49
Figura 16 -	HS de (a) HACV·HSO ₄ , (b) HACV·NO ₃ e (c) HACV·Cl mapeados em d_{norm}	51
Figura 17 -	Superfície de Hirshfeld do tipo dos sais (a) HACV·NO ₃ e (b) HACV·Cl evidenciando os pares de triângulos associados a presença de interações do tipo $\pi\cdots\pi$	52
Figura 18 -	Contribuição dos contatos para os sais HACv·HSO ₄ , HACv·NO ₃ e HACV·Cl.....	52
Figura 19 -	HS de (a) HACV·BrC, (b) HACV·BrP mapeados em d_{norm}	53
Figura 20 -	Superfície S dos sais (a) HACV·BrC, (b) HACV·BrP evidenciando os pares de triângulos associados a presença de interações do tipo $\pi\cdots\pi$	54
Figura 21 -	Contribuição dos diferentes contatos na HS para os sais HACV·BrC e HACV·BrP.....	54
Figura 22 -	Mapas de interação total para a) ACV anidro b) HACV·HSO ₄ , c) HACV·NO ₃ , d) HACV·Cl, e) HACV·BrC e f) HACV·BrP.....	55
Figura 23 -	Comparativo entre os difratogramas de ACV (Laranja), HACV·BrP (Rosa), HACV·BrC (Roxo) e o experimento a 25°C (Preto)	57

Figura 24 -	Comparativo entre os difratogramas de ACV (Laranja), HACv·BrP (Rosa), HACv·BrC (Roxo) e o experimento a 3°C (Preto).....	57
Figura 25 -	Comparativo entre os difratogramas de ACV (Laranja), HACV·BrP (Rosa), HACV·BrC (Roxo) e o experimento a -2°C (Preto).....	58
Figura 26 -	Curvas DSC e TGA dos sais: (a) HACV·HSO ₄ , (b) HACV·Cl, (c) HACV·NO ₃ e (d) HACV·BrC.....	59
Figura 27 -	Espectros Infravermelho do ACV (Laranja), HACv·BrC (Roxo), HACv·NO ₃ (Verde), HACv·Cl (Azul) e HACv·HSO ₄ (Vermelho).....	61
Figura 28 -	Espectros Raman do ACV (Laranja), HACv·BrC (Roxo), HACv·NO ₃ (Verde), HACv·Cl (Azul) e HACv·HSO ₄ (Vermelho).....	62
Figura 29 -	Solubilidade aquosa dos sais HACv·HSO ₄ , HACv·Cl, HACv·NO ₃ e HACv·BrC.....	63
Figura 30 -	HS mapeada em d _{norm} dos sais a) HACv·BrP e b) HACv·BrC.....	65
Figura 31 -	Diferença nas ligações que influenciam no empacotamento dos sais a) HACv·BrC e b) HACv·BrP, em laranja diferença nos arranjos planares e em vermelho diferença nas ligações de união dos arranjos.....	65
Figura 32 -	Comparativo coformacional entre HACv·BrP e HACv·BrC.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela de dados Cristalográficos e parâmetros de refinamento	32
Tabela 2 - Ligações de hidrogênio entre as regiões doadora (Azul) e aceptora (Vermelho).....	39
Tabela 3 - Atribuição das bandas espectroscópicas	56
Tabela 4 - Valores de Energia de Rede e Solubilidade.....	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	21
1.1 O Vírus e a Pandemia	21
1.2 Reposicionamento Farmacêutico.....	22
1.3 Aciclovir.....	24
1.4 Formas Sólidas	25
1.5 Sais Farmacêuticos	25
1.6 Engenharia de Cristais e Síntese Supramolecular.....	26
2 OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo geral.....	31
2.2 Objetivos específicos.....	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Síntese Supramolecular	31
3.2 Difração de Raio X de Monocristal (DRXM).....	31
3.3 Difração de Raio X de Pó (DRXP).....	32
3.4 Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier.....	32
3.5 Espectroscopia Raman.....	32
3.6 Superfície de Hirshfeld (<i>Hirshfeld Surface</i>) (<i>HS</i>)	34
3.7 Cálculo das Energia de Rede	34
3.8 Análises Termogravimétricas (<i>Thermogravimetric Analysis</i>) (<i>TGA</i>).....	34
3.9 Calorimetria de Varredura Diferencial (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>) (<i>DSC</i>).....	35
3.10 Mapas de Interação Completa (<i>Full Interaction Maps</i>) (<i>FMI</i>).....	35
3.11 Análises de Solubilidade.....	35
4 NOVAS FORMAS SÓLIDAS DE ACICLOVIR: SAIS COM ÁCIDOS	
 INORGÂNICOS	37
4.1 Obtenção dos Sais.....	37

4.2 Difração de Raio x de Monocristal (SCXRD)	38
4.2.1 Nitrato de Aciclovir.....	40
4.2.2 Hidrogeno-Sulfato de Aciclovir	41
4.2.3 Cloridrato de Aciclovir.....	43
4.2.4 Bromidrato de Aciclovir.....	45
4.2.5 Comparação das Conformações das Moléculas de ACV	48
4.3 Superfícies de Hirshfield (HS)	50
4.4 Mapas de Interação Completa (FIM)	55
4.5 Controle dos Processos de Síntese Supramolecular	56
4.6 Análises Térmicas (DSC e TGA)	58
4.7 Análises Espectroscópicas	60
4.8 Solubilidade em Equilíbrio	62
4.9 Relação Estrutura- Solubilidade	63
REFERÊNCIAS	69
ANEXOS	75
Anexo A – Artigo Publicado	75
APÊNDICES	79
Apêndice A – Mapas bidimensionais do tipo <i>fingerprint</i>	79
Apêndice B -Tabelas de Informação de ligações	85

1 INTRODUÇÃO

1.1 O Vírus e a Pandemia

O primeiro coronavírus (CoV) isolado foi encontrado em aves nos anos 1930¹ conhecido como vírus da bronquite infecciosa (VBI), o qual ainda afeta significativamente a produção avícola. Em humanos, o primeiro CoV encontrado em humanos foi isolado somente na década de 1960. A família *Coronaviridae* é extensa, sendo composta por vírus envelopados com genoma de RNA de fita simples de cerca de 30 kb (Figura 1), dividida em subfamílias *Torovirinae* e *Coronavirinae*, sendo esta última dividida em *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*.¹⁻²

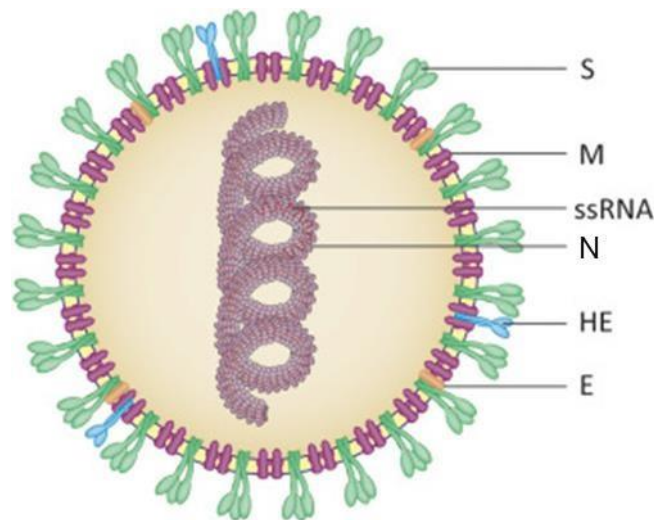


Figura 1 - Estrutura de um vírus da subfamília *Coronavirinae*

Fonte: PAYNE.¹

Todos os CoVs codificam quatro proteínas estruturais, sendo três associadas à membrana (S, M e E) e uma proteína nucleocapsídeo (N). Alguns Betacoronavirus possuem uma proteína de membrana adicional chamada HE.^{2,3} Até 2002, as infecções humanas por CoVs eram associadas a doenças respiratórias leves. No entanto, o Coronavírus Humano (HCoV) foi identificado como causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) em 2002^{3,4} marcando um ponto de virada.

Porém, em 2012, ocorreram os primeiros casos de Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS), causada por outro tipo de coronavírus. Em dezembro de 2019, houve o surgimento do Sars-CoV-2, terceiro coronavírus a causar uma pandemia, resultando na COVID-19. Este vírus, altamente contagioso, apresenta uma proteína Spike (S) que se liga fortemente à

enzima ACE2 (enzima de conversão de angiotensina tipo 2) que está contida em uma capsula lipoproteica que envolve o seu material genético: uma fita simples de RNA positiva. é transmitido principalmente por via aérea (Figura 2)⁵.

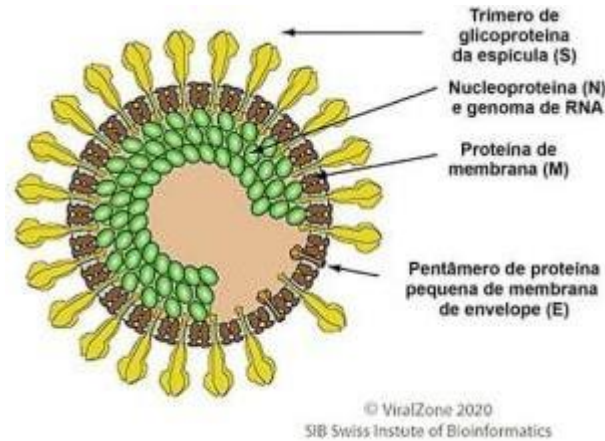


Figura 2 - Estrutura viral do Sars-CoV-2
 Fonte: LI.²

A infecção originada pela entrada do Sars-CoV-2 foi denominada pela Organização Mundial da Saúde como doença 2019 do coronavírus (COVID-19)²⁻⁴. O que não se esperava é que a COVID-19 se espalharia facilmente pelo mundo, e que causaria até o momento, segundo a Organização Mundial de Saúde, a ocorrência 767.750.853 casos confirmados e 6.941.095 mortes^{2-4,6-8}.

1.2 Reposicionamento Farmacêutico

A rápida propagação da COVID-19 afetou diversos países pelo mundo, não somente com o contágio populacional em que foram perdidas milhões de vidas, mas também com a ausência de preparo por parte das autoridades³.

Dada a situação emergencial, surgiu uma enorme necessidade de desenvolver agentes terapêuticos e o emprego de estratégias capazes de prevenir o surto do vírus e combater a infecção viral de forma rápida, segura e efetiva. Dentre essas estratégias, podemos destacar o Reposicionamento Farmacêutico (RF) o qual se caracteriza pela identificação de novos usos para medicamentos aprovados ou experimentais que estão fora do escopo da indicação médica original⁹, o que oferece vantagens por ser mais

barata, rápida e segura quando comparado ao desenvolvimento tradicional de novos medicamentos tradicionais, que é um processo caro, demorado e de alto risco¹⁰⁻¹¹.

Para o processo de RF os custos da fase III que envolvem regulamentação farmacêutica podem permanecer os mesmos, porém havendo uma economia substancial nos custos pré-clínicos e de fase I e II.

Nesse contexto, essa abordagem têm o potencial de resultar em um retorno menos arriscado e mais rápido do investimento feito no desenvolvimento de medicamentos reaproveitados de fato, os custos de colocar um medicamento reaproveitado no mercado foram estimados em US\$ 300 milhões em média, em comparação com uma estimativa de ~ 2-3 bilhões de dólares para uma nova entidade química.¹²

Nos últimos anos, porém, os casos mais famosos de RF não seguiram uma abordagem sistemática de planejamento onde podemos usar como exemplo o reposicionamento do Citrato de sildenafil, baseado em experiências clínicas posteriores ao início de sua utilização. O fármaco foi originalmente desenvolvido como um anti-hipertensivo e reposicionado pela farmacêutica Pfizer para o tratamento de disfunção erétil, renomeado como Viagra, sendo responsável por 47% da participação do mercado de medicamentos neste segmento em 2012 com vendas mundiais totalizando US\$ 2,05 bilhões¹³

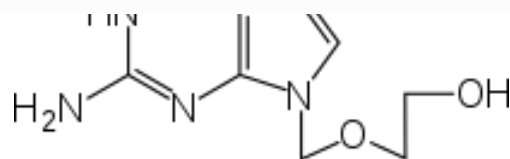
Reposicionar o Viagra foi apenas um dos pontos para que o reposicionamento farmacêutico ganhasse forças fazendo com que diversos outros Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) fossem avaliados para uma tentativa de aproveitar suas propriedades ainda não exploradas¹⁴. Desde então, a técnica utilizada para a abordagem proposital do reposicionamento farmacêutico foi refinada e pode ser dividida em duas grandes classes: Experimental e Computacional.

Com o objetivo de encontrar um fármaco capaz de combater a pandemia de COVID-19, diversas classes de fármacos foram avaliadas para o combate a infecção causada pelo Sars-CoV-2, especialmente os antivirais^{10,11,15}. Como exemplo, poderíamos citar o medicamento remdesivir, inicialmente projetado para o tratamento da hepatite C e do vírus Ebola, mas que mostrou atividade contra o SARS-CoV-2 e foi aprovado para uso no tratamento da COVID-19.

¹⁶ Dessa forma, Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) que possam atuar interferindo na replicação viral foram testados pela comunidade científica contra a COVID-19.

1.3 Aciclovir

Dentre os fármacos avaliados, podemos destacar o Aciclovir (ACV) (Esquema 1), um antiviral barato, comum e de fácil acesso utilizado em todo o mundo. Aciclovir, (2-amino-1,9-diidro-9-[(2- hidroxietoxi)metil]-6H-purina-6-ona, ou 9-[(2-hidroxietoxi)metil]-guanina), apresentado no esquema 1, apresentou um benefício terapêutico maior para pacientes leves e usuais em pacientes graves¹⁷⁻¹⁸.



Esquema 1 - Estrutura bidimensional do Aciclovir (ACV)

ACV é um fármaco antiviral que foi descoberto em meados da década de 1970, usado até os dias atuais para tratar o vírus herpes simples (HSV), herpes genital e vírus varicela zoster (VVZ). O ACV tem, como principal mecanismo de ação, sua conversão em aciclovir monofosfato, pela timidina quinase codificada viralmente com subsequente conversão em aciclovir trifosfato, por enzimas celulares, inibindo assim a DNA polimerase viral por atuar como análogo à desoxiguanosina trifosfato (dGTP)¹⁹. Com base nessas informações, o ACV foi testado com boas evidências para promover algum efeito contra a infecção por COVID-19²⁰.

Entretanto, não há garantias de que esta apresentação do ACV seja a mais indicada para o RF, dado que a forma comercial apresenta problemas de solubilidade e permeabilidade. Mesmo sendo muito utilizado, existem poucas formas sólidas cristalinas de ACV relatadas na literatura^{24,28}, sendo comercializado na forma de um sesquihidrato, a forma sólida mais estável²³⁻²⁴. Esses fatos colocam o ACV como pertencente a classe III ou IV, dependendo do mg/comprimido (concentração do fármaco)²⁵, do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Nesse sistema, dividido em quatro classes, temos: classe I (muito solúveis e muito permeáveis), II (pouco solúveis, porém muito permeáveis), III (muito solúveis, pouco permeáveis), IV (pouco solúveis e pouco permeáveis).

1.4 Formas Sólidas Fármaceuticas

O desenvolvimento de formas sólidas farmacêuticas é complexo e envolve vários processos nos quais inúmeros fatores devem ser considerados como solubilidade, polimorfismo, estabilidade, compatibilidade de excipientes, dissolução e *scale-up*²⁶. Os IFAs são principalmente ministrados no estado cristalino ou amorfo, por meio de diversas formulações farmacêuticas como cápsulas, pós, suspensões ou géis, sendo administrados em grande parte por via oral na forma de comprimidos, que representam a forma mais conveniente, compacta e econômica de entregá-los à população²⁷⁻²⁸.

Para esse cenário, IFAs cristalinos são mais atraentes do que os não cristalinos (amorfos), devido à sua estabilidade termodinâmica, pureza e capacidade de fabricação. No estado cristalino, entretanto, podem existir IFAs em diversas formas sólidas, tais como sais, co-cristais, hidratos e solvatos, além de que cada um podem exibir polimorfismo. Cada uma destas formas sólidas apresentam propriedades físico-químicas e farmacodinâmicas específicas (como ponto de fusão, solubilidade, higroscopicidade, etc.) que podem afetar a qualidade e a segurança de um medicamento²⁹. Mais de 40% dos IFAs comercializados atualmente apresentam algum problema de biodisponibilidade e o ACV não está excluído desta parcela.

O desenvolvimento de novas formas sólidas cristalinas desses IFAs poderia ser uma estratégia eficaz para melhorar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas³⁰⁻³¹.

1.5 Sais Farmacêuticos

O termo “*Sal farmacêutico*” se refere a moléculas ionizadas, neste caso, de IFAs ionizados formados pela combinação de um íon ácido e um íon básico oriundos de uma reação ácido-base que podem estar conectados por meio de uma interação chamada ligação de hidrogênio assistida por carga (LHAC), formando uma forma sólida única e neutra. Esses sais são frequentemente uma excelente alternativa quando um IFA em sua forma neutra não possui um desempenho eficiente em dissolução, solubilidade e/ou absorção corporal. Baseados nas propriedades desses sais é possível modificá-los através da troca dos contraíons utilizados, permitindo que o desenho de diferentes sais farmacêuticos possa ser simplificado quando aplicada a abordagem de engenharia de cristais com foco nas LHAC. A formação do sal de um IFA através da combinação com diferentes contraíons possui aplicações em diferentes etapas do desenvolvimento farmacêutico,³²⁻³⁶ como por exemplo na purificação, remoção de impurezas, soluções racêmicas, cristalização fracionada, além de ser um procedimento operacional comum

durante o processo de desenvolvimento de formulações. Como dito anteriormente, transformar um IFA neutro em um sal farmacêutico pode resultar em ganhos substanciais ao perfil farmacocinético de um fármaco, como a melhora em sua estabilidade química, absorção, viabilização da produção e administração³². Portanto, a produção de sais farmacêuticos surge como uma estratégia para aprimorar características indesejadas ao passo de que desenvolver a forma sólida salina ideal é extremamente importante para a qualidade, segurança e performance do IFA em questão.

Produzir sais farmacêuticos é uma estratégia versátil que permitiu uma grande quantidade de fármacos produzidos neste formato, estimando que aproximadamente 50% dos IFAs atuais estejam na forma de sal³³. Assim, as propriedades dos contraíons utilizados na produção dos sais pode afetar significativamente as propriedades farmacêuticas dos IFAs estudados, gerando muitos benefícios químicos em diversas áreas do desenvolvimento de fármacos^{32-33,35}.

No processo de síntese supramolecular de formas sólidas cristalinas multicomponentes, a diferença de pK_a , entre os coformeros, permite prever se a nova forma sólida será um cocrystal ou um sal. Embora estes parâmetros envolvam as condições de equilíbrio em regimes sólidos/líquidos, a formação de sais é observada assertivamente quando a diferença entre o pK_a dos compostos que irão compor o sal é grande o suficiente. Essa técnica é “*Regra do ΔpK_a* ” e é definida como $\Delta pK_a = pK_a$ (ácido conjugado da base) – pK_a (ácido), essa diferença está baseada nos estudos de formas sólidas previamente reportadas e nos diz que temos 3 cenários possíveis: $\Delta pK_a < 0$, $0 < \Delta pK_a < 3$ e $\Delta pK_a > 3$. No primeiro teremos a formação majoritária de cocrystal, no segundo de possível formação de sais e/ou cocrystal e no terceiro majoritária formação de sais.³⁷⁻³⁸

1.6 Engenharia de Cristais e Síntese Supramolecular

A busca por diferentes formas sólidas de um IFA se tornou parte integrante do avanço nas ciências farmacêuticas regido pela engenharia de cristais³⁹⁻⁴⁰. Por essa razão, encontrar, dentro da diversidade de formas sólidas cristalinas possíveis quais as mais ideias e suas rotas de síntese de forma confiável e reproduzível são de interesse crucial para o desenvolvimento dessa nova estratégia⁴¹. As propriedades de um composto em estado cristalino, dependem do arranjo estrutural de suas moléculas no cristal, de modo que modificar sua estrutura cristalina pelo controle das suas interações intermoleculares permite racionalizar o desenvolvimento de novas formas sólidas multicomponentes exibindo características específicas.

O empacotamento cristalino de uma substância representa um delicado equilíbrio entre conformação molecular e interações intermoleculares, isto é, ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, forças hidrofóbicas, forças eletrostáticas e interações do tipo $\pi \cdots \pi$, que são os princípios fundamentais do reconhecimento molecular e da automontagem de moléculas em cristais⁴¹⁻⁴⁴. O potencial da engenharia de cristais aplicada para otimizar o desempenho de fármacos ocorreu na primeira parte do século 21, como parte de um interesse emergente na co-cristalização de compostos farmacêuticos, pela indústria farmacêutica e pela academia, seguido de triagem de polimorfos, hidratos, sais e materiais amorfos. Uma abordagem valiosa para projetar novas modificações sólidas de um IFA é identificar a associação entre entidades químicas complementares em termos de seus motivos estruturais, levando à formação de "*Sintons*"⁴⁵⁻⁴⁷



2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo principal o desenvolvimento racional de novos sais do fármaco aciclovir com propriedades físico-químicas aprimoradas visando o seu reposicionamento farmacêutico para o tratamento de COVID-19.

2.2 Objetivos específicos

- 1) Desenvolver os protocolos de sínteses supramolecular de sais farmacêuticos do IFA aciclovir;
- 2) Desenhar os experimentos de obtenção de formas sólidas cristalinas.
- 3) Analisar as propriedades físico-químicas dos sólidos farmacêuticos obtidos por difração de raio X tanto em cristais únicos quanto em amostras policristalinas, técnicas de espectroscopia vibracional (IV e Raman) e análise térmica (DSC e TGA);
- 4) Correlacionar os dados estruturais, espectroscópicos e termodinâmicos;
- 5) Realizar estudos de solubilidade em meio aquoso.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Síntese Supramolecular

Para obtenção dos sais de ACV, o protocolo de síntese adotado, inicia em uma avaliação estrutural para identificação dos grupos funcionais mais propensos a serem utilizados nas trocas de carga, formação de ligações de hidrogênio e conseqüentemente na formação das novas formas sólidas. Avaliando a estrutura do ACV, é possível destacar cinco grupos funcionais sendo eles os grupos: Amina, Amida, Álcool, Imina e Éter. Dentre esses, três estão frequentemente presentes na formação de sais: Amina, Amida e Imina. A escolha dos coformadores levou em consideração o caráter básico fornecido pelos grupos funcionais ao ACV em comparação com os ácidos inorgânicos mais comumente utilizados na indústria farmacêutica para a formação das formas sólidas (HCl, H₂SO₄, HBr e HNO₃). Como próximo passo, para favorecer as reações ácido-base entre o ACV e os ácidos utilizados, foi escolhido realizar as reações em solução buscando fornecer um ambiente mais propenso a transferência do próton

Assim, solventes do tipo álcool (metanol, etanol e isopropanol) foram utilizados. Nesse contexto, 22.5mg (0.1 mmol) de ACV foram suspensas em 1 ml de álcool durante 5 minutos, depois disso 0.2 ml de uma solução

1.0 M de cada ácido utilizado (1:1 molar) foi adicionado suspensão e a mistura foi agitada por mais 15 min. As soluções, então foram deixadas para esfriar lentamente até 25 °C, recobertas com Parafilm[®] e perfuradas poucas vezes para evaporação lenta dos solventes. Após a precipitação de sólidos brancos para todos os experimentos, as soluções foram filtradas, sendo possível observar a formação de cristais compatíveis com os experimentos de difração de raio X.

3.2 Difração de Raio X de Monocristal (DRXM)

Para as medidas de DRXM dos sais, com exceção do HAcv·BrP, foi utilizado um difratômetro Rigaku XtaLAB Synergy-S Dualflex, instalado no Laboratório Multiusuário de Cristalografia Estrutural do Instituto de Física de São Carlos – USP (LaMuCrEs-IFSC), equipado com um detector de contagem de fótons HyPix-6000HE Hybrid Photon com acesso a radiação de Mo ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) e Cu-K α ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$). Essas medidas foram realizadas utilizando a radiação Cu-K α , devido à baixa intensidade das reflexões obtidas durante a

utilização da radiação de Mo. As medidas foram realizadas a 100K para garantir um ganho adicional nas intensidades das reflexões obtidas em resoluções maiores, quando comparadas às respectivas intensidades obtidas em medidas à temperatura ambiente, permitindo assim uma medida com maior precisão. Já para o HACV·BrP o equipamento utilizado foi um difratômetro Rigaku XtaLAB mini II, também localizado no LaMuCrEs – IFSC/USP, equipado com o detector de tipo CCD e fonte de tubo selado de Mo ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Essa medida foi realizada a temperatura ambiente. O refinamento dos parâmetros de cela, a determinação das estratégias de coleta de dados, a realização das coletas de dados assim como a redução de dados foram executados em todos os casos utilizando o programa CrysAlisPRO²¹. Esse programa está disponível gratuitamente e permite o tratamento de dados oriundos de coletas de diferentes difratômetros. A correção por absorção foi realizada utilizando métodos distintos para cada uma das estruturas analisadas:

Tabela 1 - Tabela de dados Cristalográficos e parâmetros de refinamento

Gaussiana	Análítica	Multi-Scan
HACV·Cl (T _{mín} =0.370, T _{máx} = 1.000) HACV·BrC (T _{mín} =0.466 e T _{máx} = 1.000) HACV·HSO₄ (T _{mín} = 0.433 e T _{máx} = 1.000)	HACV·BrP (T _{mín} = 0.579 e T _{máx} =0.859)	HACV·NO₃ (T _{mín} =0.474 e T _{máx} =1.000)

Fonte: Elaborada pelo autor

As estruturas foram resolvidas utilizando o método de fases intrínseco com o programa SHELXT-2018/2²³. O refinamento das estruturas, foi realizado usando métodos de mínimos-quadrados por meio do software SHELXL-2019/2²⁵. Ambos os programas foram utilizados dentro do pacote de programas cristalográficos Olex2²⁹.

Os átomos não-hidrogenóides foram localizados baseados na análise do mapa Fourier diferença, e refinados anisotropicamente, já as posições dos átomos de hidrogênio foram fixadas em $C(\text{Sp}^2) = 0.97$, $C(\text{Sp}^3) = 0.93$, $N(\text{Sp}^2) = 0.86$, $\text{OH} = 0.92$, em suas posições ideais de acordo com sua natureza química e hibridização, e refinadas isotropicamente de acordo com os parâmetros de deslocamento do modelo “riding” [$U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}(\text{N}, \text{C})$ ou $1.5 U_{\text{eq}}(\text{O})$]²⁵. O software Olex2²⁷ também foi utilizado para gerar as imagens.

Os dados estruturais, referentes as estruturas dos HACV·NO₃, HACV·Cl, HACV·HSO₄, HACV·BrC e HACV·BrP aqui discutidos foram depositadas na base de dados *Cambridge Structural Database* (CSD) sob os números de depósito 2247004, 2247005, 2247006, 2326478, 2326481.

3.3 Difração de Raio X de Pó (DRXP)

Os padrões de difração de raio x de pó foram adquiridos em um difratômetro Rigaku Ultima IV, instalado no LaMuCrEs-IFSC. As medidas foram realizadas com 2θ variando de 5° até 50° , região onde foi possível observar a presença de picos nos difratogramas. As medidas foram realizadas utilizando passos de 0.02° e velocidade de 5° min^{-1} . As medidas foram realizadas utilizando radiação de $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$), com tensão 40 kV e 20 mA de corrente. Os padrões foram comparados utilizando como base os difratogramas calculados gerados pela inserção do arquivo CIF no software SmartLab Studio II e comparados com as estruturas cristalinas correspondentes. Essa comparação é realizada inserindo os arquivos contendo os dados da coleta para leitura no software SmartLab Studio II, onde, utilizando a opção de identificação defase, que permite comparar os padrões de difração obtidos com diversas bases, que podem ser previamente disponibilizadas ou carregadas, assim como compara-los com arquivos do tipo “.cif”. Neste segundo cenário, realizado neste trabalho, foi possível quantificar a presença de fases cristalinas, previamente determinadas, no padrão de difração analisado, comparando os padrões obtidos com os compostos de partida utilizados (ACV), possíveis formas encontradas como ACV hidratado e outras formas de ACV para avaliar a qualidade dos experimentos realizados.

3.4 Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier

Os espectros de Infravermelho foram coletados utilizando um espectrômetro Bomem Michelson FT MB-102, localizado no Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos da Universidade Federal de São Carlos (LERCI-UFSCar) e medidos com alcance entre $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$, região de interesse de compostos orgânicos, onde é possível encontrar as bandas de assinatura presentes nos compostos analisados. Para adquirir os espectros de todas as amostras, foram produzidas pastilhas com concentração de 1 mg dos compostos em 100 mg de KBr, essa proporção permite uma melhor coleta de dados devido à natureza da técnica que precisa da passagem da radiação através da pastilha.

3.5 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram adquiridos utilizando um espectrômetro Horiba LabRAM HR evolution UV-VIS-NIR, também instalado no LaMuCrEs-IFSC. Os espectros foram medidos no intervalo de $200\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$, novamente contemplando a região onde se encontram os principais sinais referentes aos compostos orgânicos analisados. Um laser de diodo de frequência de 532 nm foi utilizado na medida, o que permitiu uma melhor excitação

dos grupos funcionais, levando assim a uma melhor avaliação dos modos vibracionais em relação aos outros lasers disponíveis com frequências de 633 e 785 nm. Um detector Horiba Symphony do tipo CCD resfriado com nitrogênio líquido foi utilizado para garantir uma maior sensibilidade.

3.6 Superfície de Hirshfeld (*Hirshfeld Surface*) (*HS*)

As superfícies de Hirshfeld e os mapas bidimensionais do tipo *fingerprints* dos sais foram calculados com base nas informações cristalográficas contidas nos arquivos CIFs (Crystallographic Information Files (CIFs)) gerados através da técnica de difração de raio X de monocristal, utilizando o programa CrystalExplorer 17.5²⁹.

As superfícies d_{norm} foram mapeadas utilizando a escala de cores de -0.7 (vermelho) até 1.3 (azul), já as superfícies *shape index* foram obtidas na escala de -1.0 (vermelho) até 1.0 (azul). Os mapas bidimensionais *fingerprints* foram gerados por meio da combinação das distâncias d_i e d_e , com escala de 0.4 até 3.0 Å^{29,31}.

3.7 Cálculo das Energia de Rede

O cálculo das energias de rede foi realizado utilizando o software CrystalExplorer 17.5²⁹. Nos cálculos foi utilizada uma vizinhança de interações de 3.8 Å ao redor da molécula. Os cálculos foram realizados utilizando como referência, somente o cátion HAcv^+ para que fosse possível avaliar as interações do IFA. A base utilizada foi a B3LYP/6-31G(d,p).

3.8 Análises Termogravimétricas (*Thermogravimetric Analysis*) (*TGA*)

Para as análises termogravimétricas, o equipamento utilizado foi um Shimadzu TGA-50 thermobalance instalado no LaMuCrEs-IFSC. Aproximadamente 4.0 mg de cada amostra foram usados para realizar as medidas em um cadinho de alumina e aquecidas a uma taxa de 10 °C min⁻¹, partindo da temperatura ambiente até o momento de identificação do processo de degradação das amostras, em uma atmosfera de nitrogênio (50 mL min⁻¹).

3.9 Calorimetria de Varredura Diferencial (*Differential Scanning Calorimetry*) (DSC)

As análises de DSC foram planejadas de acordo com os resultados prévios encontrados nas análises TGA, ou seja, as análises foram realizadas até o ponto de início de degradação de cada amostra avaliada. Os experimentos foram realizados num calorímetro Shimadzu DSC-60 instalado no LaMuCrEs-IFSC. As amostras foram aquecidas a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em um cadinho de alumínio selado sob uma atmosfera de nitrogênio (50 mL min^{-1}). O processamento dos dados foi feito por meio do software Shimadzu TA-60 thermal data analysis.

3.10 Mapas de Interação Completa (*Full Interaction Maps*) (FMI)

Essa análise é especialmente útil para explorar as interações intermoleculares em estado sólido e foi realizada utilizando o programa Mercury³³ baseado em um repositório de interações intermoleculares dos grupos funcionais das estruturas cristalinas depositados na CSD. A partir desta análise é possível avaliar, por meio de indicadores, regiões doadoras eceptoras de densidade eletrônica, permitindo assim a compreensão do comportamento das interações intermoleculares.

3.11 Análises de Solubilidade

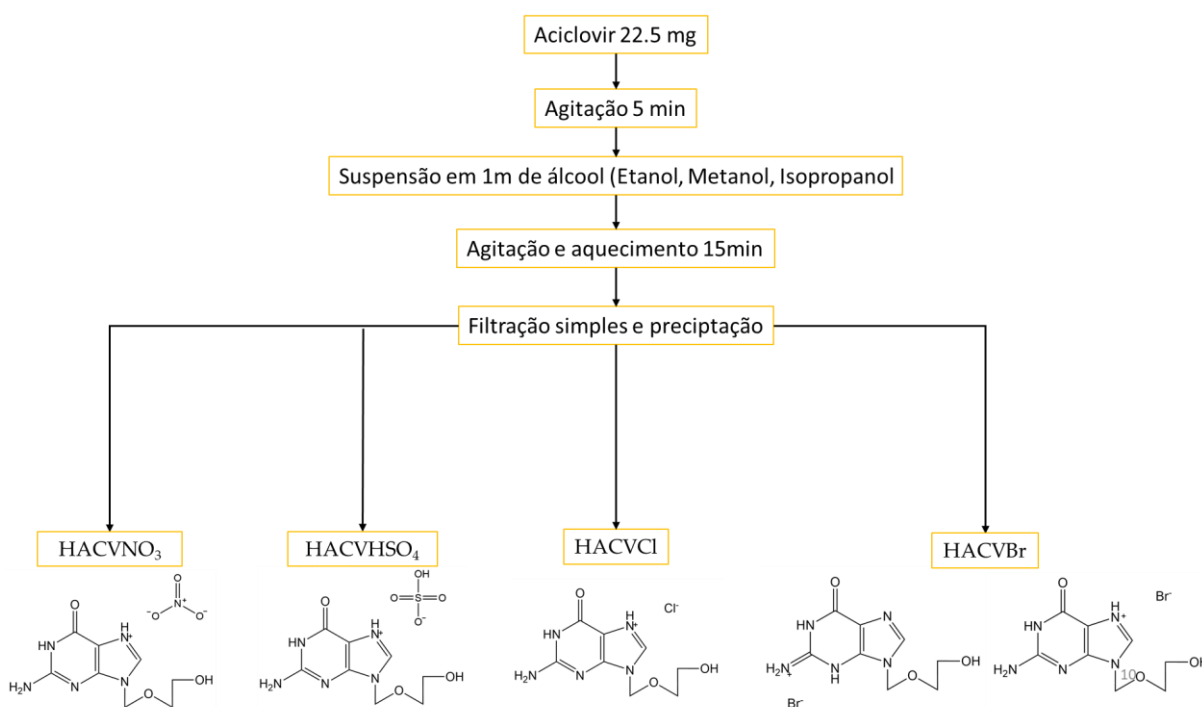
A avaliação de solubilidade é uma ferramenta essencial para investigar e antecipar o impacto das propriedades no estado sólido na biodisponibilidade do IFA. Portanto, esse teste *in vitro* é frequentemente conduzido como parte da caracterização farmacêutica, direcionando o desenvolvimento de formulações inovadoras, buscando estabelecer correlações significativas com parâmetros *in vivo*. A solubilidade aquosa do ACV em sua forma comercial e os seus sais foram avaliados em temperatura ambiente utilizando um espectrofotômetro UV-Vis 1800 Shimadzu instalado no LaMuCrEs-IFSC. Soluções saturadas dos componentes foram preparadas suspendendo cada um dos compostos em água deionizada (água Milli-Q) e deixadas para descansarem por 24h para garantir que não haveria particulado suspenso na solução antes do processo de filtração, realizados nas soluções, após as 24h, utilizando um filtro de $0.45\text{ }\mu\text{m}$, diluídas e medidas no intervalo de 200–600 nm, região em que foi possível encontrar sinais de absorvância das amostras analisadas. As concentrações dos compostos foram determinadas comparando os resultados das medidas com as curvas de calibração correspondentes

construídas baseadas nos valores de absorvância em $\lambda = 251$ nm para a solução padrão preparadas com variação entre 0.025 e 0.2 mg mL⁻¹.

4 NOVAS FORMAS SÓLIDAS DE ACICLOVIR: SAIS COM ÁCIDOS INORGÂNICOS

4.1 Obtenção dos Sais

Aciclovir é um derivado de guanina e possui características anfóteras, podendo agir como um ácido fraco (pK_a entre 2.16 e 2.27) ou como uma base (pK_a entre 9.04 e 9.25), a depender do sistema ao qual se expõe. Os sais foram sintetizados levando em consideração o comportamento de característica básica do grupo funcional purina, utilizando os seguintes ácidos inorgânicos: clorídrico, nítrico, bromídrico e sulfúrico. O processo de síntese destes novos sais foi realizado utilizando os passos descritos no esquema baixo (Esquema 2):



Esquema 2 – Resumo do processo de obtenção das formas sólidas.

Como pode ser observado, a rota utilizada resultou em 5 formas sólidas, sendo elas sais farmacêuticos, baseados nos seus respectivos ácidos: Cloridrato para ácido clorídrico, hidrogeno sulfato para ácido sulfúrico, nitrato para ácido nítrico e dois bromidratos para o ácido bromídrico.

4.2 Difração de Raio X de Monocristal (SCXRD)

A formação do ACV em sua forma catiônica ocorreu por meio da protonação do nitrogênio N5 localizado no anel imidazol ou do nitrogênio N3 localizado no anel pirimidina, devido a diferença significativa entre os valores de pK_a do IFA e dos ácidos inorgânicos ($\Delta pK_a > 3$)^{36,38}. A presença dos hidrogênios ligados aos átomos N3 ou N5 também é confirmada com as análises de espectroscopia vibracional e dos mapas Fourier diferença.

Tabela 2 - Tabela de dados Cristalográficos e parâmetros de refinamento

	HACV·HSO₄	HACV·NO₃	HACV·Cl	HACV·BrC	HACV·BrP
Fórmula Química	C ₈ H ₁₃ N ₅ O ₇ S	C ₈ H ₁₂ N ₆ O ₆	C ₈ H ₁₂ N ₅ O ₃ Cl	C ₈ H ₁₂ N ₅ O ₃ Br	C ₈ H ₁₂ N ₅ O ₃ Br
Massa Molar (g mol ⁻¹)	323.29	288.24	261.68	306.14	306.14
Sistema Cristalino	Triclinico	Monoclinico	Triclinico	Monoclinico	Triclinico
Grupo Espacial	P-1	P21/c	P-1	Cc	P-1
a (Å)	7.7475 (1)	11.9342 (10)	6.6360 (5)	5.40540(10)	6.7814(5)
b (Å)	8.6389 (1)	14.8161 (10)	8.6147 (6)	29.8930(3)	8.6800(6)
c (Å)	10.4881 (1)	6.7449 (8)	10.2881 (8)	7.12770(10)	10.3478(6)
α (o)	74.2290 (10)	90	83.137 (6)	90	91.831(5)
β (o)	85.7930 (10)	90.4810 (90)	71.696 (7)	107.614(2)	107.093(5)
γ (o)	69.1930 (10)	90	80.607 (6)	90	98.641(6)
V (Å ³)	631.28 (1)	1192.58 (19)	549.43 (7)	1097.96(3)	573.71(7)
Z	2	4	2	4	2
Dimensões do Cristal/mm ³	0.331 × 0.105 × 0.05	0.149 × 0.05 × 0.02	0.356 × 0.08 × 0.05	0.394 × 0.096 × 0.038	0.550 × 0.170 × 0.100
Radiação	Cu Kα (λ = 1.54184)	Cu Kα (λ = 1.54184)	Cu Kα (λ = 1.54184)	Cu Kα (λ = 1.54184)	Mo Kα (λ = 0.71073)
Densidade/g cm ⁻³	1.701	1.605	1.582	1.852	1.772
θmin, θmax/o	8.764, 140.084	9.516, 148.988	9.078, 140.024	11.842, 154.734	6.05, 69.132
Intervalo dos índices de Miller	-9 ≤ h ≤ 9	-14 ≤ h ≤ 14	-8 ≤ h ≤ 8	-6 ≤ h ≤ 6	-10 ≤ h ≤ 10
	-10 ≤ k ≤ 10	-18 ≤ k ≤ 18	-9 ≤ k ≤ 10	-37 ≤ k ≤ 37	-13 ≤ k ≤ 13
	-12 ≤ l ≤ 12	-8 ≤ l ≤ 8	-12 ≤ l ≤ 12	-8 ≤ l ≤ 8	-16 ≤ l ≤ 16
F (000)	336.0	600.0	272.0	616.0	308.0
μ/mm ⁻¹	2.753	1.204	3.183	5.211	3.589
Correção de Absorção	Gaussiana	Multi-scan	Gaussiana	Gaussiana	Analítica
Max./min. Trasmissoão	1.000/0.433	1.000/0.474	1.000/0.370	1.000/0.466	0.859/0.579
Reflexões Independentes	26012	3585	5287	11051	14976
Medidas					
Reflexões/Rint	2400/0.029	3585/0.062	2022/0.039	1706/0.043	4639/0.0278
Parâmetros Refinados	192	183	155	155	155
Índices de Discordância [I ≥ 2σ(I)]	R1 = 0.0258/wR2 = 0.0672	R1 = 0.0622/wR2 = 0.1606	R1 = 0.0334/wR2 = 0.0846	R1 = 0.0196/wR2 = 0.0509	R1 = 0.0334/wR2 = 0.0721
Índices de Discordância [todos os dados]	R1 = 0.0260/wR2 = 0.0674	R1 = 0.0901/wR2 = 0.1811	R1 = 0.0361/wR2 = 0.0865	R1 = 0.0198/wR2 = 0.0509	R1 = 0.0583/wR2 = 0.0815
Goodness of fit (S)	1.071	1.050	1.062	1.051	1.027
Densidade Eletrônica Residual (eÅ ⁻³)	0.20/-0.44	0.31/-0.33	0.35/-0.29	0.60/-0.47	0.55/-0.83
Número CCDC	2247004	2247005	2247006	2326478	2326481

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2.1 Nitrato de Aciclovir

O sal $\text{HACV}\cdot\text{NO}_3$ possui uma unidade assimétrica composta por um cátion de HACV^+ e um ânion de nitrato, cristalizando no grupo espacial monoclinico $\text{P2}_1/\text{c}$ (Figura 3). A estrutura cristalina do $\text{HACV}\cdot\text{NO}_3$ é estabilizada por ligações de hidrogênio clássicas: $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ e $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$, como é possível visualizar na Figura 4, que são responsáveis pela formação de uma rede supramolecular bidimensional no sentido do plano $[100]$.

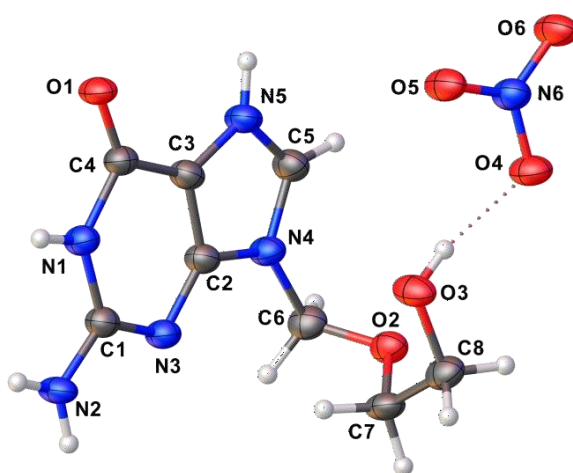


Figura 3 – Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do nitrato de aciclovir com numeração atômica e elipsoides térmicos representados com 50% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor

O arranjo dimérico presente na estrutura é formado pela associação de dois cátions HACV^+ por meio da ligação de hidrogênio $\text{N1}-\text{H1}\cdots\text{O3}'$ e a interação do tipo $\pi\cdots\pi$ (3.624 Å) envolvendo os anéis de pirimidina (Figura 4b), esses dímeros estão conectados uns aos outros pelas interações $\text{N2}-\text{H2a}\cdots\text{O1}''$ e a ligação de hidrogênio bifurcada $\text{N2}-\text{H2b}\cdots\text{O1}'\cdots\text{H5}''-\text{N5}''$ ($\text{C}_2^1(9)$). Além disso, as interações entre os íons HACV^+ e NO_3^- formam Sintons com motivos $\text{R}^3(10)$ e $\text{R}^2(9)$ (Figura 4c).

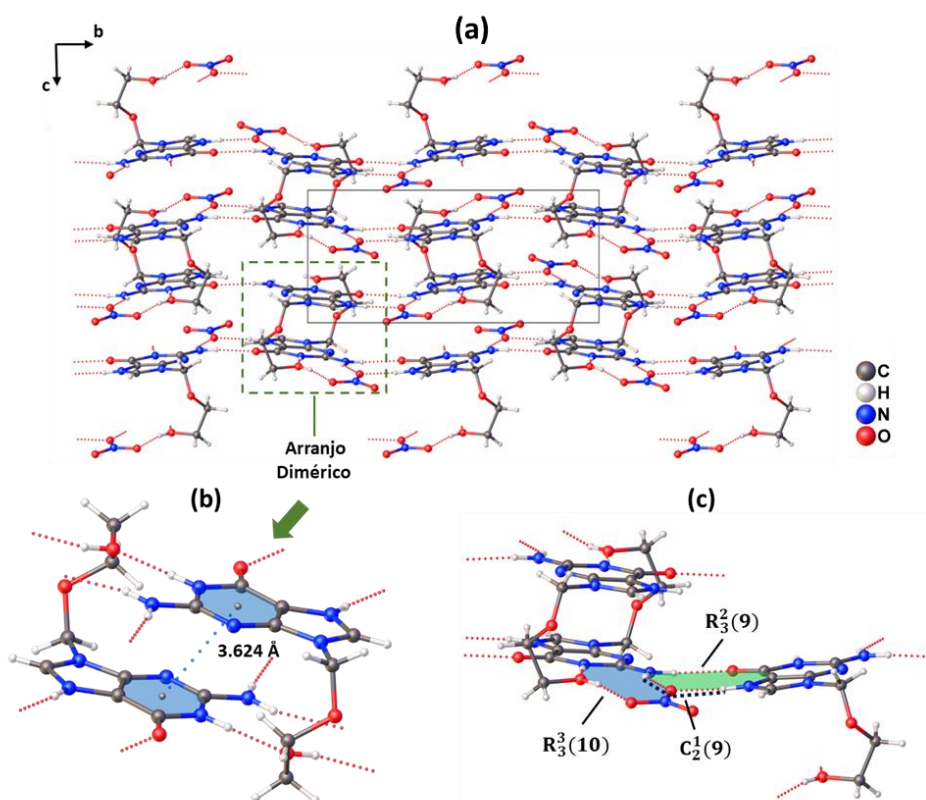


Figure 4 - Empacotamento cristalino do HACV·NO₃. (a) Arranjo supramolecular 2D visto através do plano *bc* (b) interações $\pi \cdots \pi$ formando um arranjo dimérico (c) Sinton supramoleculares do tipo $R_3^3(10)$, $R_2^2(9)$ e $C_1^1(9)$ envolvendo as interações das moléculas de Acv⁺ mediadas pelos ânions NO₃⁻.

Fonte: Elaborada pelo autor

4.2.2 Hidrogeno-Sulfato de Aciclovir

O sal HACV·HSO₄ cristaliza no grupo especial triclinico P-1, com um cátion HACV⁺ e um ânion de hidrogeno-sulfato por unidade assimétrica (Figura 5). A presença de apenas um grupo O–H localizado no contração HSO₄⁻ é evidenciado pelo comprimento da ligação S1–O5, possuindo características de uma ligação simples sendo ao menos 0.11 Å mais longa que as outras ligações do tipo S–O⁴⁰.

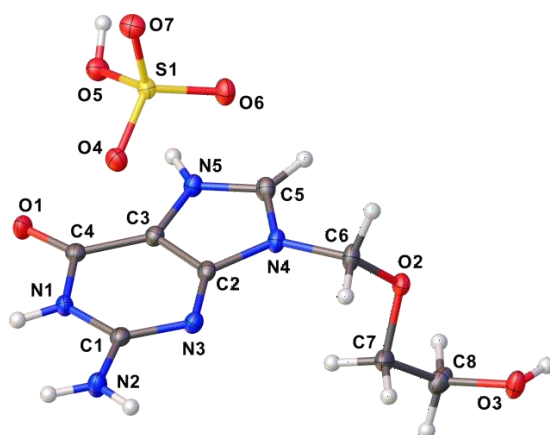


Figura 5 - Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do Hidrogeno-Sulfato de aciclovir com numeração atômica e elipsoides térmicos representados com 50% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor

As Figura 6a e 6b apresentam o empacotamento cristalino do $\text{HACV} \cdot \text{HSO}_4$ com a representação das ligações de hidrogênio: $\text{N-H} \cdots \text{O}$, $\text{N-H} \cdots \text{N}$ e $\text{O-H} \cdots \text{O}$. O empacotamento cristalino é composto pelos íons de HACV^+ e HSO_4^- distribuídos em camadas que se intercalam na direção [001] (ver Figura 6) conectadas pelas ligações de hidrogênio do tipo $\text{N-H} \cdots \text{O}$ e $\text{O-H} \cdots \text{O}$. As interações intermoleculares do tipo $\text{N-H} \cdots \text{O}$ e $\text{O-H} \cdots \text{O}$ entre dois cátions HACV^+ e os ânions hidrogeno-sulfato são responsáveis pela formação de homosintons, enquanto as interações $\text{N-H} \cdots \text{O}$ entre os grupos 2-aminopirimidina e os ânions de hidrogeno-sulfato formam heterossintons. Essas interações formam fitas com motivos $\text{R}^2(8)$, conectadas umas às outras por meio das ligações do tipo $\text{N5-H5} \cdots \text{O3}$. A presença das interações mencionadas permite a organização dos íons em um arranjo supramolecular tridimensional (Figura 6)

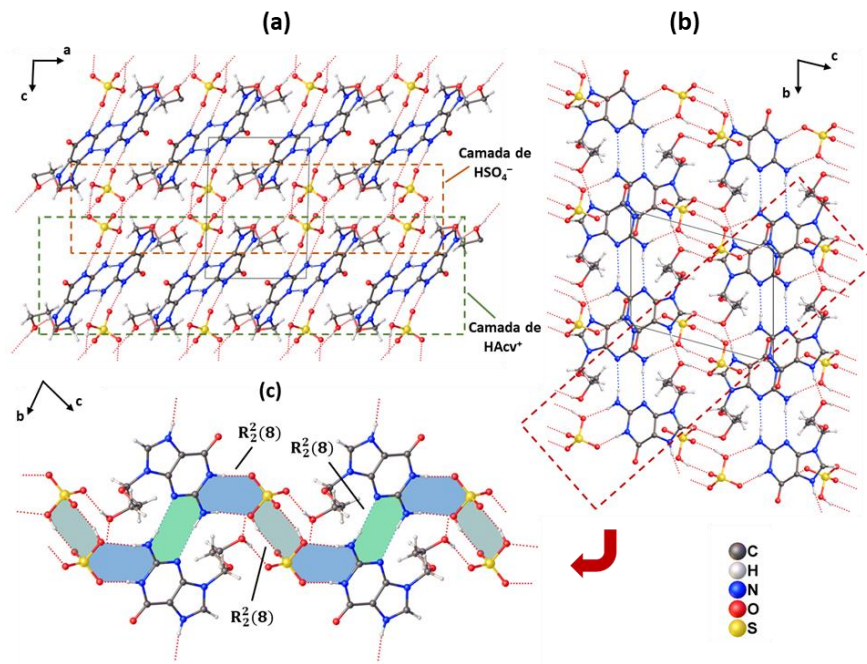


Figura 6 - Empacotamento cristalino do HACV·HSO₄ (a) visão do plano *ac* (b) visto do plano *bc* (c) representação gráfica dos três motivos $R_2^2(8)$, envolvendo a interação das moléculas de HACV⁺ mediadas por HSO₄.

Fonte: Elaborada pelo autor

4.2.3 Cloridrato de Aciclovir

O cloridrato de aciclovir já era encontrado na literatura, porém não teve sua estrutura elucidada, sendo caracterizado apenas por PXRD, portanto nesse trabalho apresenta-se mais informações estruturais e a descrição do seu empacotamento cristalino.

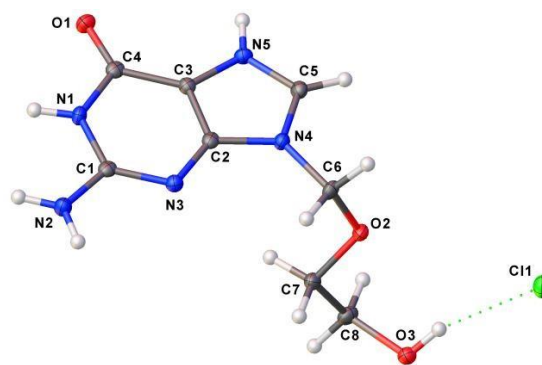


Figura 7 - Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do cloridrato de aciclovir com numeração atômica e elipsoides térmicos representados com 50% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor

A estrutura cristalina do HACV·Cl pertence ao grupo especial triclinico P-1, com unidade assimétrica formada por um cátion HACV⁺ e um íon cloreto.

As interações do tipo $\text{HACV}^+\cdots\text{HACV}^+$ e $\text{HACV}^+\cdots\text{Cl}^-$ estabilizam uma rede supramolecular bidimensional no plano [100], como mostra a Figura 8a. Também é possível destacar a formação de um arranjo molecular encadeado envolvendo os íons Cl^- e HACV^+ intercalados na direção [001], essa configuração envolve a interação dos átomos N1 e N2 com O3 mediada pelas ligações dos hidrogênios H1, H2a e H8 com o átomo C11. Ainda sobre as interações, o homosínton com um motivo $R_2^2(16)$ é formado pelas interações do tipo $\text{N2-H2a}\cdots\text{O1}''$ entre duas moléculas de HACV^+ , enquanto as interações $\text{N1-H1}\cdots\text{Cl1}'''$ e $\text{N2-H2b}\cdots\text{Cl1}'''$ formam um heterosínton com motivo $R_2^1(6)$ (Figura 8c). Uma interação do tipo $\pi\cdots\pi$ com distância de 3.417 Å também é observada na estrutura do $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$ (Figura 8c), conectando dois cátions HACV^+ por meio dos grupos purinas apresentando a formação de uma estrutura pseudo dimérica.

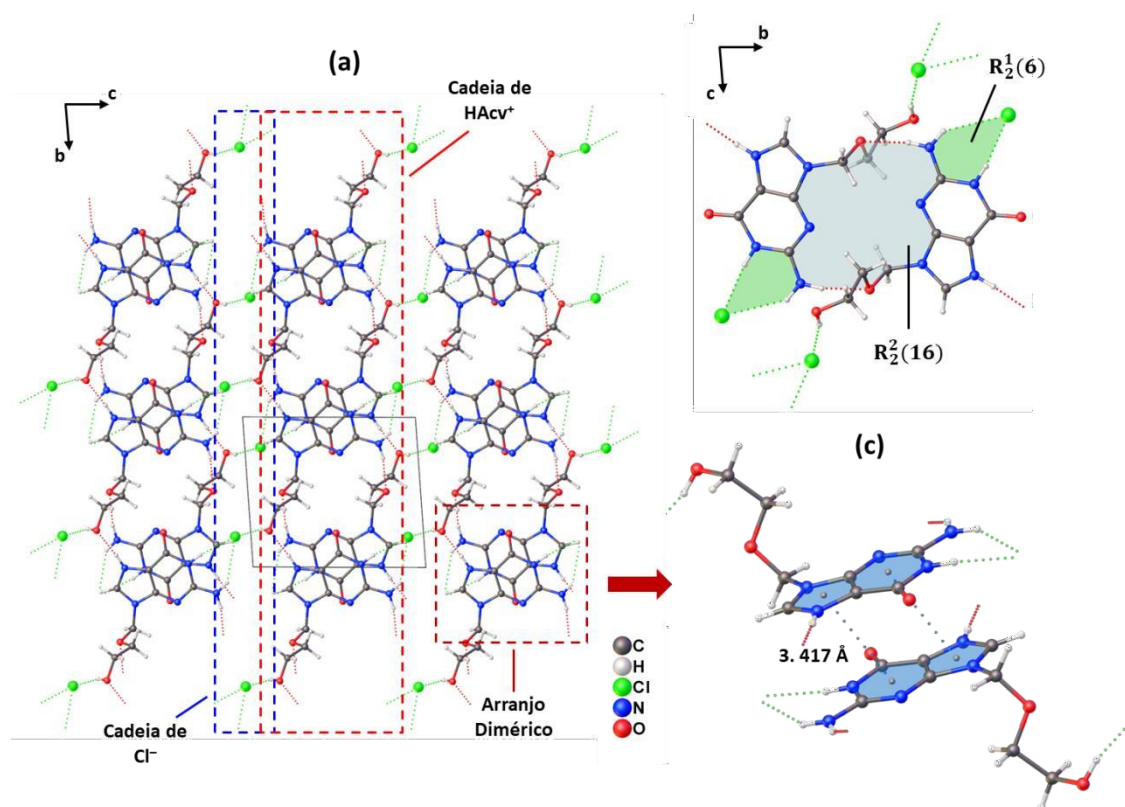
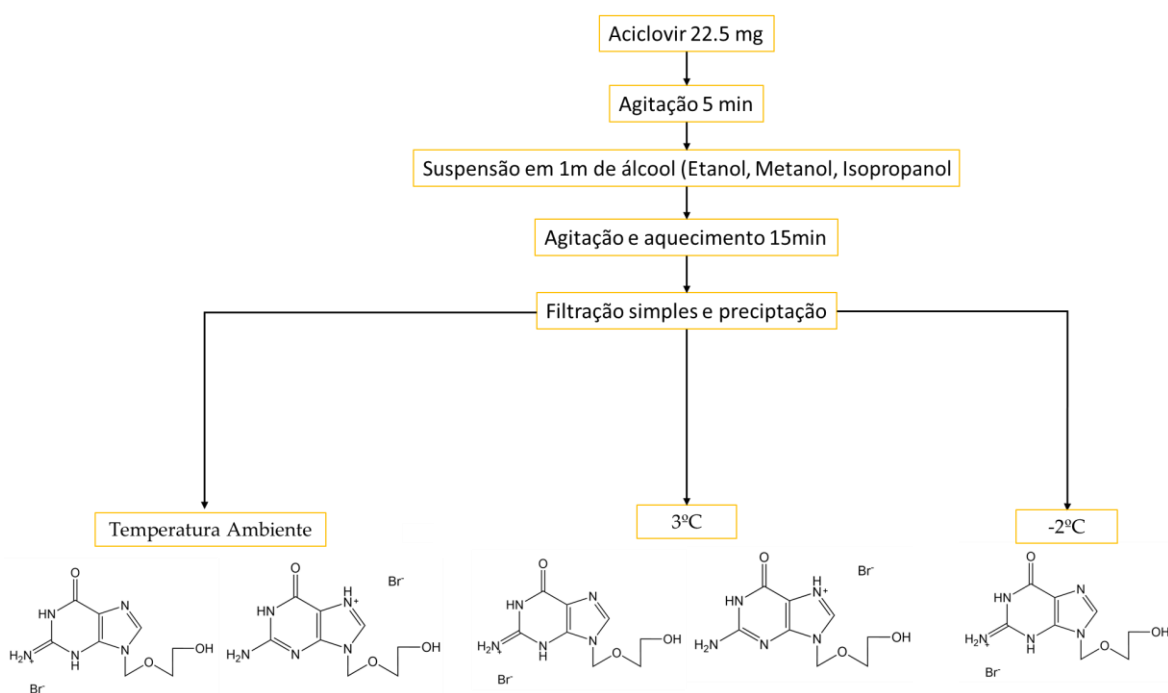


Figure 8 - Empacotamento cristalino do $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$. (a) Arranjo supramolecular 2D visto através do plano bc (b) Visualização gráfica dos motivos $R_2^2(16)$ e $R_2^1(6)$ envolvendo as interações entre as moléculas de ACV^+ mediadas por Cl^- (c) interações $\pi\cdots\pi$ formando o arranjo dimérico.

Fonte: Elaborada pelo autor

4.2.4 Bromidrato de Aciclovir

Diferente dos outros sais já descritos, a produção do HACV·Br apresentou uma condição particular: A formação de duas estruturas cristalinas diferentes. Neste cenário, foram encontradas, nas mesmas condições de síntese supramolecular, duas formas cristalinas pertencentes a dois grupos espaciais diferentes Cc e P-1. A principal diferença, como é possível observar com mais detalhes a seguir, se dá na protonação do íon HACV⁺. Essa multiplicidade nas formas sólidas oriundas da combinação do ACV com ácido bromídrico despertou o interesse em desenvolver formas de separá-las para poder entender o processo de formação destes sólidos. A alternativa encontrada para a produção de apenas uma forma sólida foi alterar a temperatura de armazenamento da solução final durante o processo de cristalização, para isso foram realizados novos experimentos com a seguinte configuração (Esquema 3):



Esquema 3 – Resumo do processo de separação dos bromidratos de aciclovir.

Assim, utilizando a estratégia de variação de temperatura durante o processo de cristalização, foi possível isolar apenas uma das formas de forma consistente. Esse processo foi então, refeito para os outros sais na tentativa de investigar a possível multiplicidade de formas sólidas, porém sem êxito.

A primeira estrutura apresentada para o sal HACV·Br pertence ao grupo espacial triclinico P-1. Essa forma apresenta um cátion HACV⁺ e um ânion brometo por unidade assimétrica. A representação tipo ORTEP da mesma pode ser observada na Figura 9.

Infelizmente não foi possível obtê-la de forma completamente isolada, apenas sempre acompanhada da segunda forma sólida.

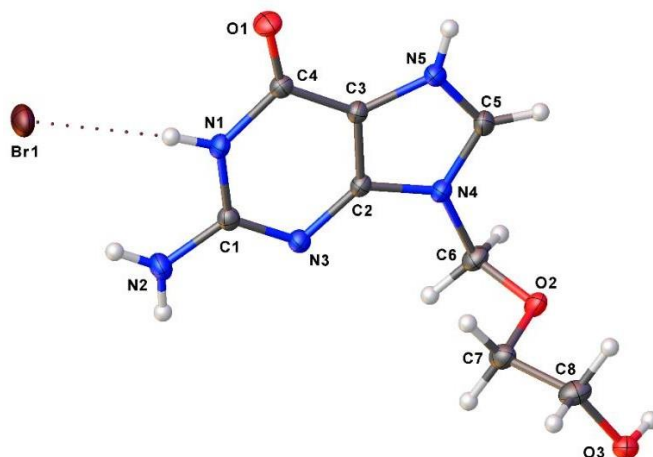


Figura 9 - Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do bromidrato de aciclovir, grupo espacial P-1, com numeração atômica e elipsoides térmicos representados com 50% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nessa estrutura, é possível observar a protonação do ACV localizada no nitrogênio N5 do anel imidazol, levando assim a uma estrutura análoga e isoestrutural a do cloridrato de aciclovir. Essa protonação, como mencionado anteriormente favorece o surgimento de interações do tipo $\text{HACV}^+ \cdots \text{HACV}^+$ e $\text{HACV}^+ \cdots \text{Br}^-$ estabilizando uma rede bidimensional no plano [100]. Também é possível observar a formação do arranjo molecular encadeado envolvendo os íons Br^- e HACV^+ , que forma cadeias bem definidas intercaladas em relação a direção [001], essas cadeias são conectadas perpendicularmente pela presença de ligações do tipo $\pi \cdots \pi$. Os homosintons com motivo $R_2^2(16)$, formado pelas interações do tipo $\text{N2-H2a} \cdots \text{O1}''$ entre duas moléculas de HACV^+ e *hétérosintons* com motivo $R_2^1(6)$ formado pelas ligações $\text{N1-H1} \cdots \text{C11}'''$ e $\text{N2-H2b} \cdots \text{C11}'''$, assim como a ligação do tipo $\pi \cdots \pi$ com distância de 3.451 Å conectando dois cátions HACV^+ por meio dos grupos purinas apresentando a formação de uma estrutura pseudo dimérica. As Figuras 10a e 10b mostram o empacotamento cristalino desta estrutura.

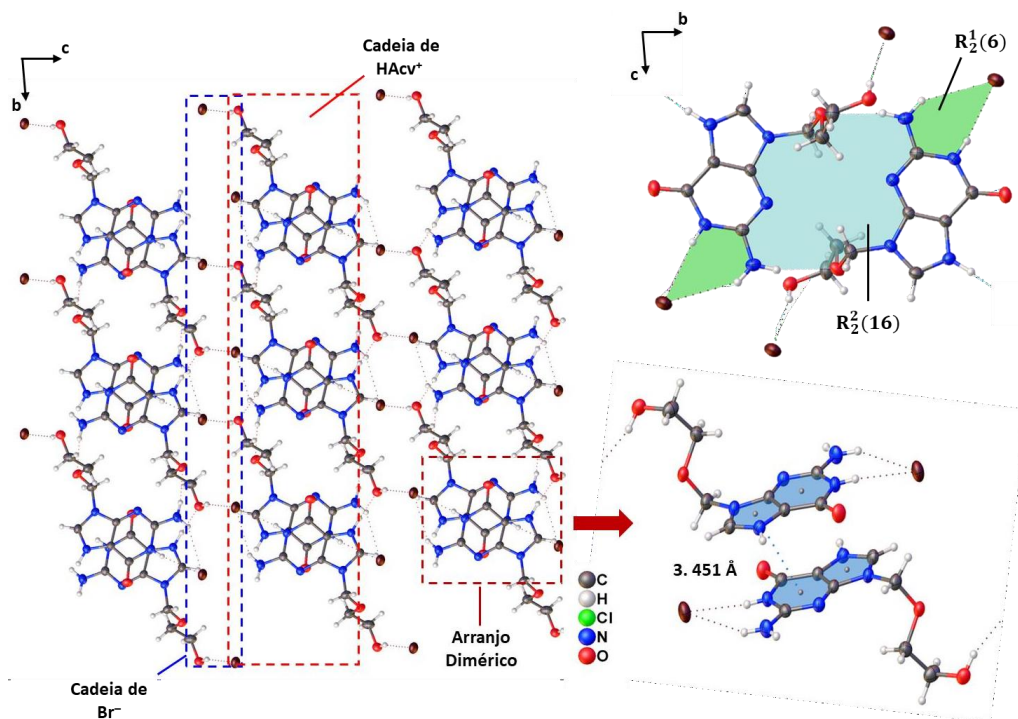


Figura 10 - Empacotamento cristalino do HACV·Br (P-1). (a) Arranjo supramolecular visto através do plano *bc* (b) Ilustração da cadeia de cátions ACV⁺ mediadas pelos *sintons* de motivo $R_2^2(9)$. (c) Ligações N–H···Br e N–H···O de conexão entre os planos.

Fonte: Elaborada pelo autor

A segunda forma sólida do sal HACV·Br, foi isolada utilizando a estratégia de variação de temperatura durante a formação dos cristais, conforme descrito acima no Esquema 3. Esta forma pertencente ao cristaliza no grupo espacial *Cc* com um cátion HACV⁺ protonado no nitrogênio N3 do anel de pirimidina e um ânion de brometo por unidade assimétrica (Figura 11).

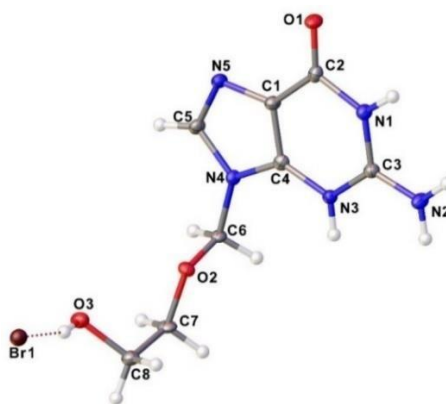


Figura 11 – Desenho tipo ORTEP da unidade assimétrica do bromidrato de aciclovir, grupo espacial *Cc*, com numeração atômica e elipsoides térmicos representados com 50% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor

Essa diferença na região em que ocorre a protonação permitiu que a estabilização da estrutura ocorresse de forma diferente da estrutura anterior, a qual ocorre por meio de ligações de hidrogênio do tipo, N–H···N, O–H···Br e N–H···Br e do surgimento da nova ligação N–H···O. Assim, as moléculas de HACV⁺ formam agora uma cadeia com representação gráfica $R^2_2(9)$ suportadas pelas ligações N–H···O, N–H···N que por sua vez se agrupam na formação empacotamento bidimensional paralelo ao plano [010]. Esses planos, se conectam por meio das ligações N–H···Br e N–H···O. As Figuras 12a-12c apresentam o empacotamento cristalino desta estrutura.

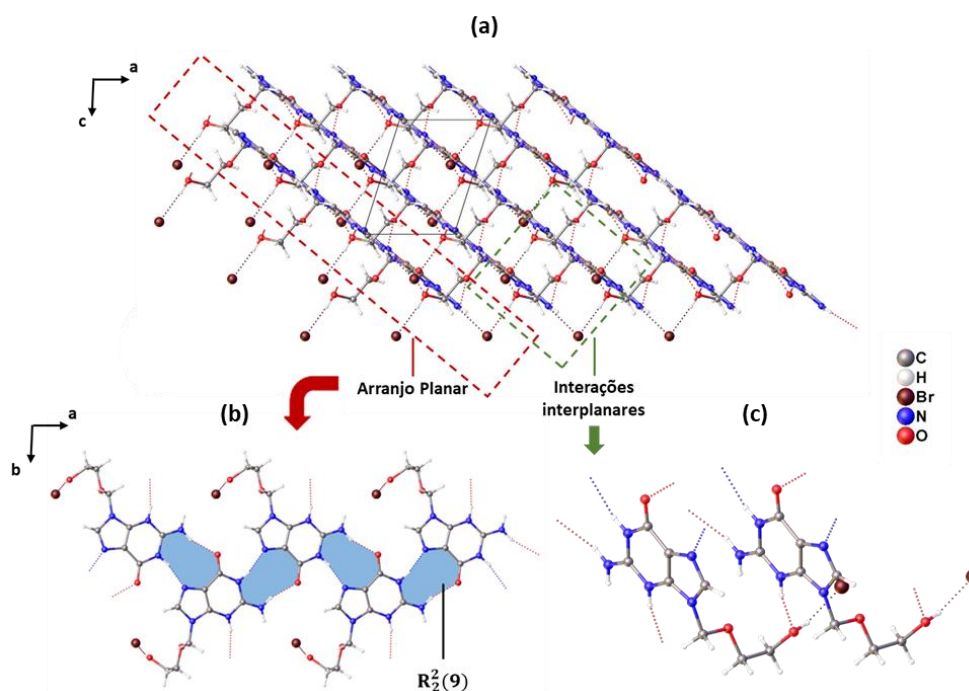


Figura 12 - Empacotamento cristalino do HACV·Br (Cv). (a) Arranjo supramolecular visto através do plano ac (b) Ilustração da cadeia de cátions ACV⁺ mediadas pelos *sintons* de representação gráfica $R^2_2(9)$ (c) Ligações N–H···Br e N–H···O de conexão entre os planos.

Fonte: Elaborada pelo autor

4.2.5 Comparação das Conformações das Moléculas de ACV

A molécula de ACV apresenta flexibilidade conformacional na região do grupo (2-hidroxiethoxi)metil conectado ao N4 (Figura 13), pode-se observar que a orientação desse grupo influencia diretamente na organização das moléculas de ACV na rede cristalina.

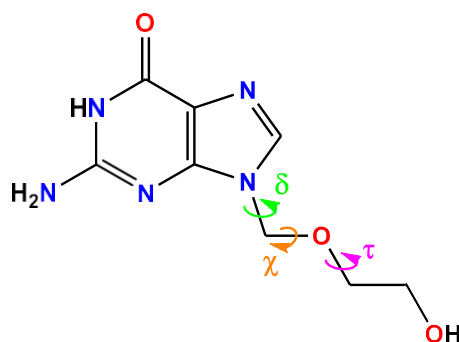


Figura 13 – Estrutura molecular do Aciclovir (ACV) evidenciando ângulos de torção δ , χ e τ .
Fonte: Elaborada pelo autor

A Figura 14 mostra a sobreposição das conformações moleculares de ACV presentes nas estruturas dos sais obtidos em comparação com a molécula de Aciclovir livre (refcode CCDC: MECWIC). É possível observar que a molécula de Aciclovir apresenta sua maior diferença conformacional no sal $\text{HAcv}\cdot\text{NO}_3$ em que o grupo (2-hidroxiethoxi)methyl está posicionado na direção oposta quando comparado com o as posições nas demais formas sólidas. A diferença conformacional envolve o ângulo δ , sendo uma consequência das diferentes interações intermoleculares entre as moléculas de ACV e os ânions.

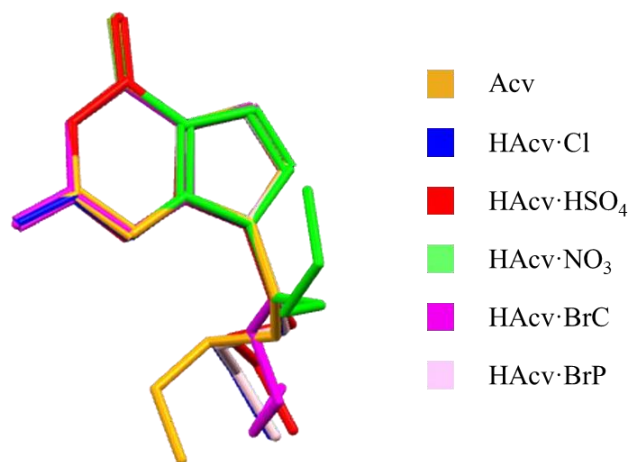


Figura 14 - Comparação das conformações apresentadas pela molécula de ACV nas diferentes formas sólidas. Fonte: Elaborada pelo autor.

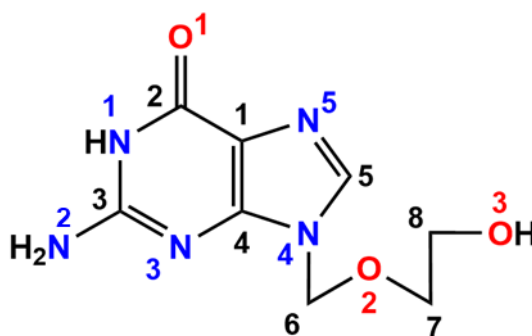


Figura 15 - Desenho 2D estrutural do fármaco aciclovir, indicando o esquema de nomenclatura adotado nas análises realizadas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Realizando uma análise conformacional da região de protonação referente ao anel imidazol, podemos observar a estabilidade no comprimento da ligação N5-C5 em todos os sais em que ocorre a alteração na ligação, enquanto a ligação N5-C1 possui pequenas variações: 1.391(3) Å no ACV e 1.383(2) Å, 1.385(2) Å, 1.386(5) Å e 1.310(2) Å para $\text{HACV}\cdot\text{HSO}_4$, $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$, HACVNO_3 e $\text{HACV}\cdot\text{BrP}$, respectivamente. Em comparação, na segunda região de

protonação encontrada somente na segunda forma do sal HCV·BrC, também é possível observar pequenas variações nas distâncias de ligação referentes as ligações: N3-C3 e N3-C4, onde ACV temos distâncias de ligação de 1.327(3) Å e 1.353(3) Å, enquanto no sal essas medidas sofrem alteração para 1.345(4) Å e 1.363(4) Å. Com relação aos ângulos destas ligações, localizados nas duas regiões distintas, é possível observar a presença de pequenas alterações em C1-N5-C5: 107.970°(11), 108.221°(14), 108.669°(3) e 108.220°(1) para os sais HACV·HSO₄, HACV·Cl, HACV·NO₃, e HACV·BrP respectivamente. No ângulo de ligação C3-N3-C4, também pode-se observar a variação entre o ACV de 112.060° (2) e de 117.230°(3) para HACV·BrC.

4.3 Superfícies de Hirshfield (HS)

Analisar a superfície de Hirshfeld (HS) gerada para as estruturas cristalinas, assim como seus mapas bidimensionais (*2D fingerprints*) permite um estudo mais específico das interações intermoleculares.

A HS pode ser representada graficamente mapeando sobre ela as distâncias normalizadas como sendo a distância ao átomo mais próximo dentro (d_i) e fora (d_e) da superfície. Usando a definição de raios de van der Waals é possível criar a superfície de Hirshfeld do tipo d_{norm} , que apresenta os contatos presentes na estrutura cristalina de um composto. A superfície d_{norm} mostra em vermelho, branco e azul a indicação de contatos com distâncias menores e mais longas que a soma dos raios de van der Waals dos átomos envolvidos. O índice de forma (*shape index*, S) é outra propriedade da superfície de Hirshfeld que auxilia na investigação de interações do tipo $\pi \cdots \pi$, que são indicadas pela presença de pares de triângulos azuis e vermelhos.

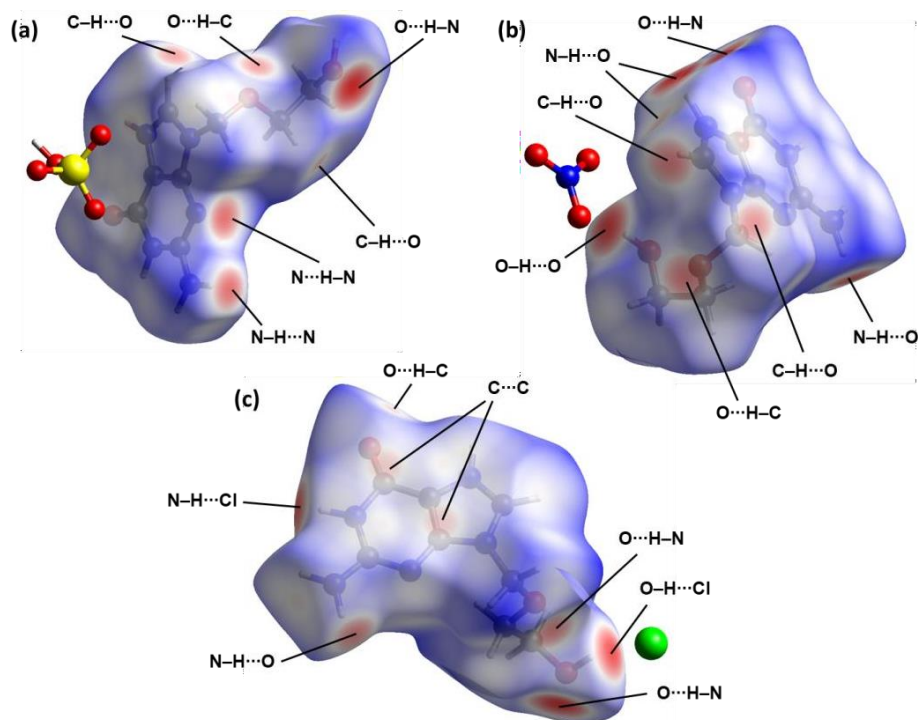


Figura 16 - HS de (a) HACV·HSO₄, (b) HCV·NO₃ e (c) HACV·Cl mapeados em d_{norm} .
Fonte: Elaborada pelo autor

A Figura 16 apresenta as HS dos sais HACV·HSO₄, HACV·NO₃ e HACV·Cl. Os pontos vermelhos observados na superfície d_{norm} indicam que as ligações de hidrogênio do tipo N–H...O que estabilizam as três estruturas. As superfícies também mostram a presença de ligações de hidrogênio do tipo O–H...N nas estruturas de HACV·HSO₄ e HACV·NO₃, atreladas á presença de átomos de oxigênio nos contraíons assim como ás interações do tipo N–H...N no HACV·HSO₄ e interações N–H...Cl e O–H...Cl no sal HACV·Cl. Além disso, é possível observar a presença de interações não-clássicas do tipo C–H...O. Pares de triângulos vermelhos e azuis, evidentes na superfície S dos sais HACV·NO₃ e HACV·Cl indicam a presença de interações do tipo π ... π nas duas redes cristalinas.

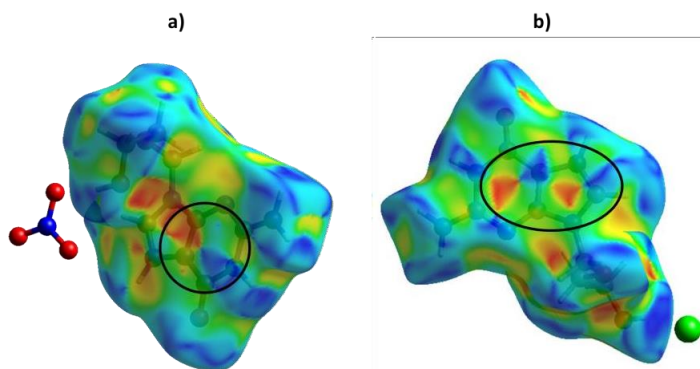


Figura 17 - Superfície de Hirshfeld do tipo S dos sais (a) HACV·NO₃ e (b) HACV·Cl evidenciando os pares de triângulos associados a presença de interações do tipo $\pi \cdots \pi$.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os mapas bidimensionais dos sais HACV·HSO₄, HACV·NO₃ e HACV·Cl apresentam visivelmente os contatos intermoleculares presentes nas estruturas. A decomposição destes mapas bidimensionais se encontra no Apêndice 1 (Figuras A1-A3) e permite a quantificação da contribuição de cada contato para o empacotamento cristalino. Para os sais HACv·HSO₄, HACV·NO₃ e HACV·Cl, os mapas bidimensionais mostram que os contatos H···H e O···H possuem a maior contribuição para o empacotamento destes três sais. Entretanto as interações H···H representam 28.9%, 27.0% e 36.7% dos contatos nos sais HACV·HSO₄, HACV·NO₃ e HACV·Cl, respectivamente. Enquanto os contatos do tipo O···H representam 44.8% (HACV·HSO₄), 49.6% (HACV·NO₃), e 27.2% (HACV·Cl). A contribuição H···H para o sal HACV·Cl é mais intensa que o contato O···H devido à ausência de átomos de oxigênio em seu contraíon (Cl⁻).

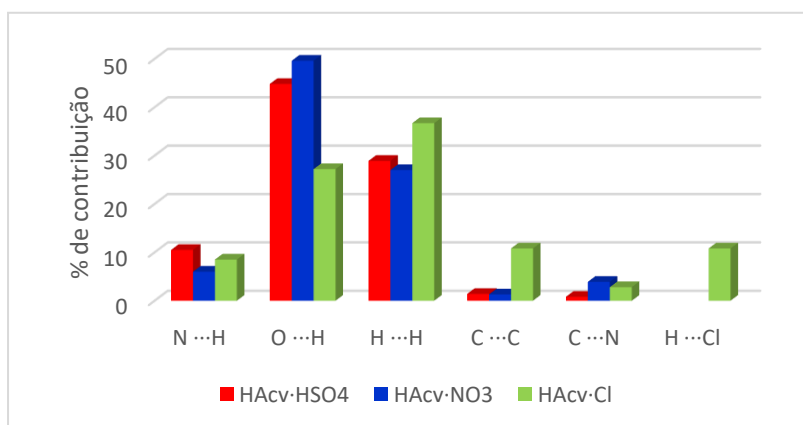


Figura 18 - Contribuição dos contatos para os sais HACv·HSO₄, HACv·NO₃ e HACv·Cl.

Fonte: Elaborada pelo autor

O cenário oposto ocorre para os outros sais. Os sais $\text{HAcv}\cdot\text{NO}_3$ e $\text{HAcv}\cdot\text{Cl}$ possuem uma maior contribuição de contatos do tipo $\text{C}\cdots\text{C}$ e $\text{C}\cdots\text{N}$ quando comparados ao $\text{HAcv}\cdot\text{HSO}_4$ devido à presença de interações do tipo $\pi\cdots\pi$ nas estruturas, como verificado nas superfícies S . Já os contatos $\text{O}\cdots\text{H}$ são observados em regiões de menor valor para d_i e d_e nos *fingerprints* para os três compostos, um indício de que essas interações são menores e mais fortes que as outras.

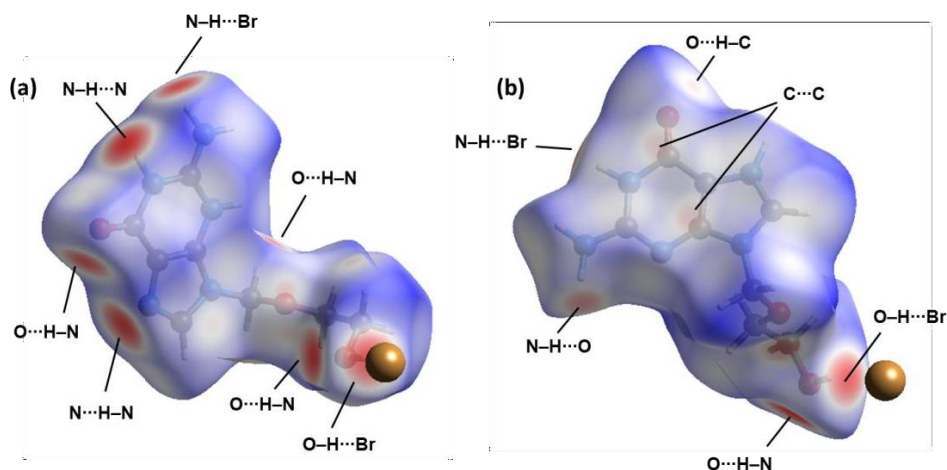


Figura 19 - HS de (a) $\text{HAcv}\cdot\text{BrC}$, (b) $\text{HAcv}\cdot\text{BrP}$ mapeados em d_{norm} .

Fonte: Elaborada pelo autor

Na Figura 19, é possível observar a distinção entre os tipos nos sais $\text{HAcv}\cdot\text{BrC}$ e $\text{HAcv}\cdot\text{BrP}$. Os contatos variam em relação a quantidade, intensidade (verificável na escala de cores, em que vermelho intenso se refere a maior intensidade), posicionamento nas regiões moleculares e ao tipo de átomos envolvidos. Como principais alterações, temos o desaparecimento das ligações tipo $\pi\cdots\pi$, observados no sal $\text{HAcv}\cdot\text{BrP}$ e no surgimento da ligação $\text{N-H}\cdots\text{O}$ envolvendo o O1 do anel de pirimidina no sal $\text{HAcv}\cdot\text{BrC}$, que não estava presente em $\text{HAcv}\cdot\text{BrP}$. Assim como para os outros sais, as estruturas do sal $\text{HAcv}\cdot\text{Br}$, apresentam em sua superfície d_{norm} indicações de que as ligações de hidrogênio do tipo $\text{N-H}\cdots\text{O}$ estabilizam as estruturas. Desse modo, podemos conferir a presença de ligações de hidrogênio do tipo $\text{N-H}\cdots\text{Br}$ e $\text{O-H}\cdots\text{Br}$ devido ao contração Br^- . Neste é possível observar a presença de interações não-clássicas do tipo $\text{C-H}\cdots\text{O}$. Na Figura 20, são apresentadas as superfícies S evidenciando pares de triângulos vermelhos e azuis, indicando a presença de interações do tipo $\pi\cdots\pi$ na rede cristalina do $\text{HAcv}\cdot\text{BrP}$ e um empacotamento diferente no caso do $\text{HAcv}\cdot\text{BrC}$.

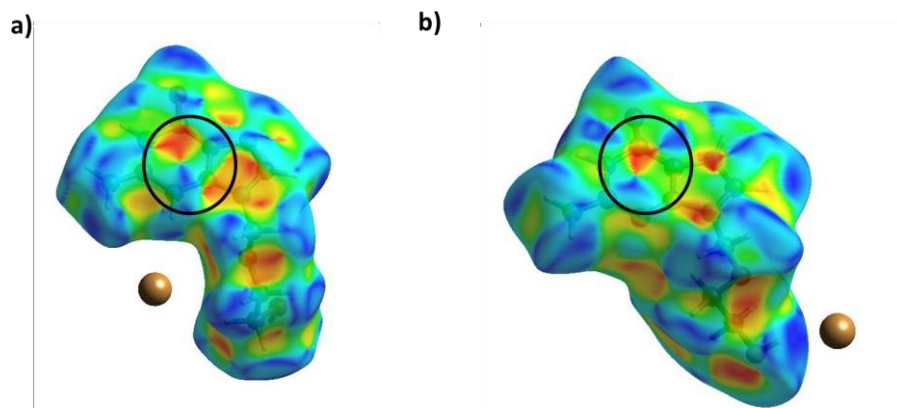


Figura 20 - Superfície S dos sais (a) HACv·BrC, (b) HACv·BrP evidenciando a diferença nos pares de triângulos associados a deformação na densidade eletrônica em HACv·BrC e à presença de interações do tipo $\pi\cdots\pi$ para HACv·BrP .

Fonte: Elaborada pelo autor

Os mapas bidimensionais apresentam visivelmente os contatos intermoleculares presentes nas estruturas. A decomposição destes *fingerprints*, presentes no Apêndice 1 (Figura A4 e A5), mostra também que os contatos H \cdots H e O \cdots H possuem a maior contribuição para o empacotamento destes sais. Os contatos do tipo H \cdots H representa 31.5% e 36.7% dos contatos em HACv·BrC, e HACv·BrP, respectivamente. Enquanto os contatos do tipo O \cdots H representam 25.3% (HACv·BrC), 27.2 % (HACv·BrP). Essa diferença na superior contribuição dos contatos H \cdots H em detrimento dos contatos O \cdots H devido à ausência de átomos de oxigênio no contraíon (Br $^-$).

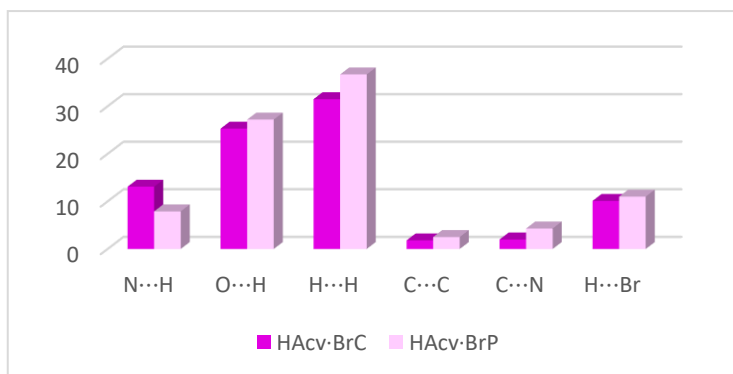


Figura 21 - Contribuição dos diferentes contatos na HS para os sais HACV·BrC e HACV·BrP.

Fonte: Elaborada pelo autor

4.4 Mapas de Interação Completa (FIM)

Para entender um pouco mais afundo as interações entre grupos funcionais presentes nos novos sais estudados, os FIMs foram utilizados com o intuito de compreender a relação doador-aceptor das densidades eletrônicas assim como a presença das regiões hidrofóbicas e hidrofílicas. Os mapas foram criados utilizando sondas de investigação que permitem identificar oxigênios carbonílicos, e oxigênios alcoólicos: para o ACV anidro e o nitrogênio carregado (NH) para os sais (Figura 22). Com isso, obtém-se uma visão geral acerca da direção preferencial e a força dos potenciais interações que os grupos funcionais presentes nas moléculas podem apresentar potencialmente.

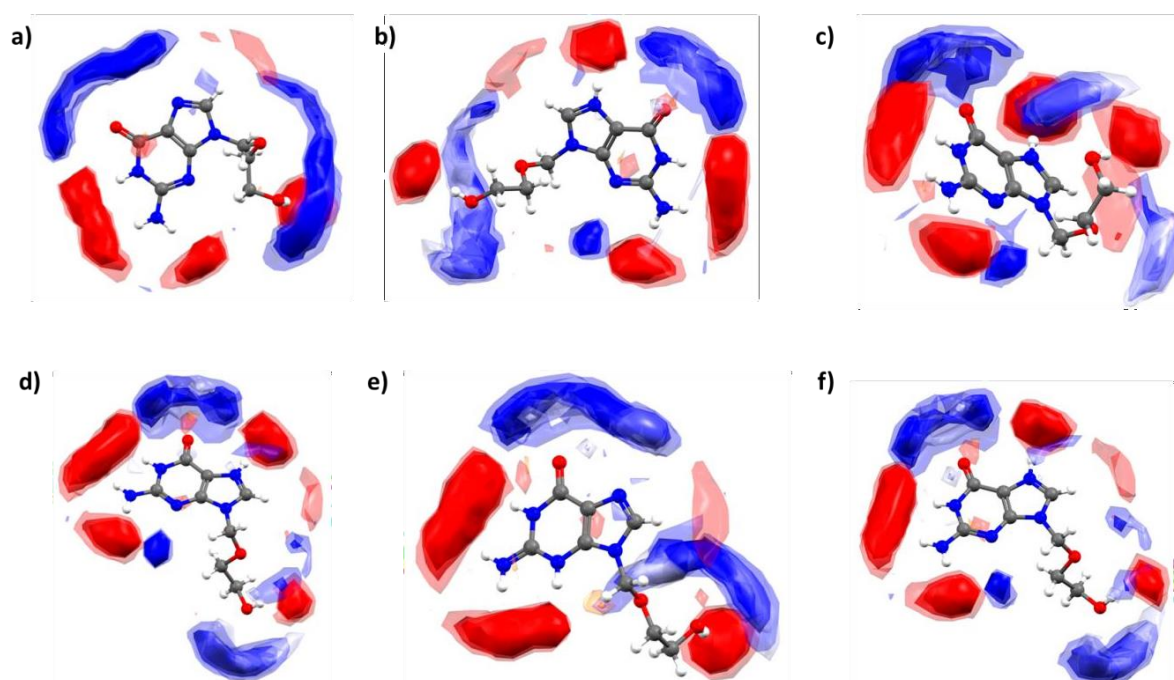


Figura 22 - Mapas de interação total para a) ACV anidro b) HACV·HSO₄, c) HACV·NO₃, d) HACV·Cl, e) HACV·BrC e f) HACV·BrP.

Fonte: Elaborada pelo autor

Os mapas podem ser observados na Figura 22 acima e apresentam regiões azuis (relacionadas às regiões doadoras) e regiões vermelhas (relacionadas às regiões aceptoras). Para o ACV anidro, essa divisão indica, na região azul, uma maior propensão dos átomos O1, O2 e N5 (região doadora) de doar densidade eletrônica para os átomos O3, N2 e N1 (região aceptora). Essas regiões são conectadas por meio das interações O1...H5-O3, O1...H2B-N2, N5...H1-N1 e O2...H2A-N2. Enquanto isso, na região vermelha, temos envolvidos os átomos: N3, N2, N1, O3 e N5 mostrando uma maior propensão a receber elétrons que estabilizam a estrutura

crystalina através da interação entre grupos funcionais envolvendo os átomos O1, O2, N3 e N1, como mencionado anteriormente. As Figuras 22b-22f apresentam regiões similares de doadores e aceptores compostas pelos grupos funcionais para o ACV anidro e os sais aqui estudados. A Tabela 2 resume as ligações de hidrogênio que conectam as regiões doadoras e aceptoras dentro de cada estrutura avaliada.

Tabela 3 – Ligações de hidrogênio entre as regiões doadora (Azul) e aceptora (Vermelho)

	Azul	Vermelho	
ACV	O1...H11	N2-H2A...O1	O3-H11...O1
	O1...H4	N5-H3...O2	N3...H1
	O2...H3	N1-H1...N3	
HACV·HSO₄	O3-H5...N5	N2-H2A...N3	N5-H5...O3
		N5-H2B...O5	O3-H3...O6
		N1-H1...O4	
HACV·NO₃	O1-H1A...N2	N2-H2A...O5	N5-H5...O5
	O3-H1...N2	N5-H2B...O1	O3-H3...O4
		N1-H1...O3	O3-H3...O5
HACV·Cl	O3-H5...N5	N2-H2A...O2	N5-H5...O5
		N5-H2B...Cl	N1-H1...Cl
HACV·BrP	O3-H5...N5	N2-H2A...O2	N5-H5...O5
		N5-H2B...Br	N1-H1...Br
HACV·BrC	O1-H2B...N2	N1-H1...N5	O3-H3...Br1
	N2-H2B...O1	N2-H2B...O1	
	N2-H2A...Br1	N2-H2A...Br1	
	O3-H3...Br1		

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 Controle dos Processos de Síntese Supramolecular

Durante o desenvolvimento dos protocolos de obtenção dos sólidos farmacêuticos de ACV, e com o intuito de garantir a formação de apenas uma fase cristalina única durante o processo de síntese supramolecular, os compostos foram avaliados por meio da difração de raio x de pó. As Figuras 23-25, apresentam a verificação da ocorrência multiplicidade de formas sólidas do sal HACV·Br presente nas formas: HACV·BrC e HACV·BrP.

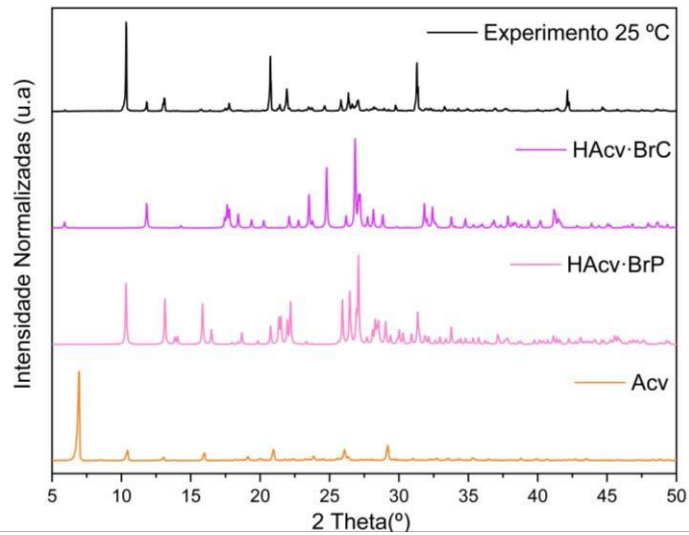


Figura 23 - Comparativo entre os difratogramas de ACV (Laranja), HACV·BrP (Rosa), HACV·BrC (Roxo) e o experimento a 25°C (Preto)

Fonte: Elaborada pelo autor

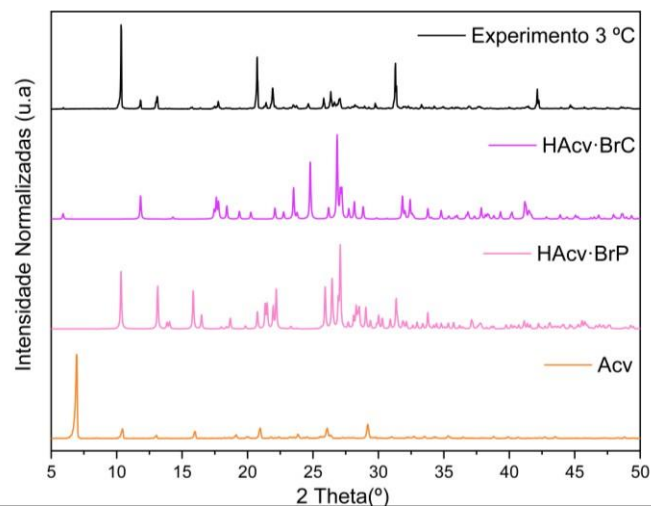


Figura 24 - Comparativo entre os difratogramas de ACV (Laranja), HACV·BrP (Rosa), HACV·BrC (Roxo) e o experimento a 3°C (Preto).

Fonte: Elaborada pelo autor

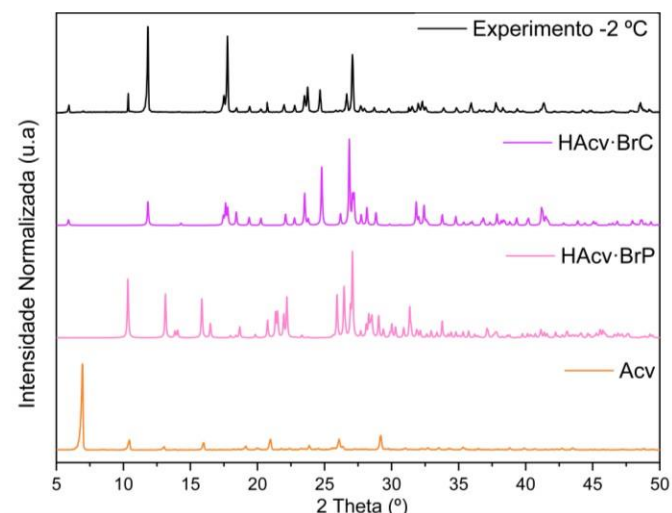


Figura 25 - Comparativo entre os difratogramas de ACV (Laranja), HACV·BrP (Rosa), HACV·BrC (Roxo) e o experimento realizado a -2 °C (Preto).

Fonte: Elaborada pelo autor

Como se torna evidente ao avaliar as Figuras 23-25 a variação da temperatura permitiu isolar apenas uma forma do sal: HACV·BrC, enquanto apesar das tentativas utilizando também outros métodos, como variação de solventes, não possível obter a forma HACV·BrP de maneira isolada. Em literatura recente foi também reportado a aparição de duas formas sólidas de ACV devido à protonação em duas regiões diferentes sendo que uma dessas formas não podia ser obtida de maneira isolada⁶⁰. Vale ressaltar a importância de se encontrar a forma de produção destas variações estruturais devido a seu grande impacto em propriedade físico-químicas e farmacocinéticas.

4.6 Análises Térmicas (DSC e TGA)

O comportamento térmico dos compostos estudados foi avaliado utilizando a combinação de técnicas de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e Análises Termogravimétricas (TGA). As curvas evidenciadas na Figura 26, apresentam os dados obtidos oriundos das duas técnicas.

A pureza das formas cristalinas foi avaliada observando, nas respectivas curvas DSC, a presença de apenas um evento endotérmico, representado pela presença de um único pico, associado ao ponto de fusão dos sais, em 134.63 °C, 149.32 °C, 163.52 °C, 168.93°C para HACV·HSO₄, HACV·Cl, HACV·NO₃ e HACV·BrC respectivamente. Também é possível identificar mais um pequeno evento endotérmico nos sais HACV·HSO₄ e HACV·Cl nas temperaturas de 49°C e 47 °C, que podem ser associados a perda de uma pequena fração de água de hidratação

superficial externa presente nas amostras devido a tendência higroscópica apresentada pelos sais.

Avaliando também a entalpia envolvida nos eventos térmicos observados, podemos estabelecer a ordem de: $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$ (192.2 Jg^{-1}) > $\text{HACV}\cdot\text{BrC}$ (145.2 Jg^{-1}) $\text{HACV}\cdot\text{HSO}_4$ (111.4 Jg^{-1}) > $\text{HACV}\cdot\text{NO}_3$ (110.8 Jg^{-1}).

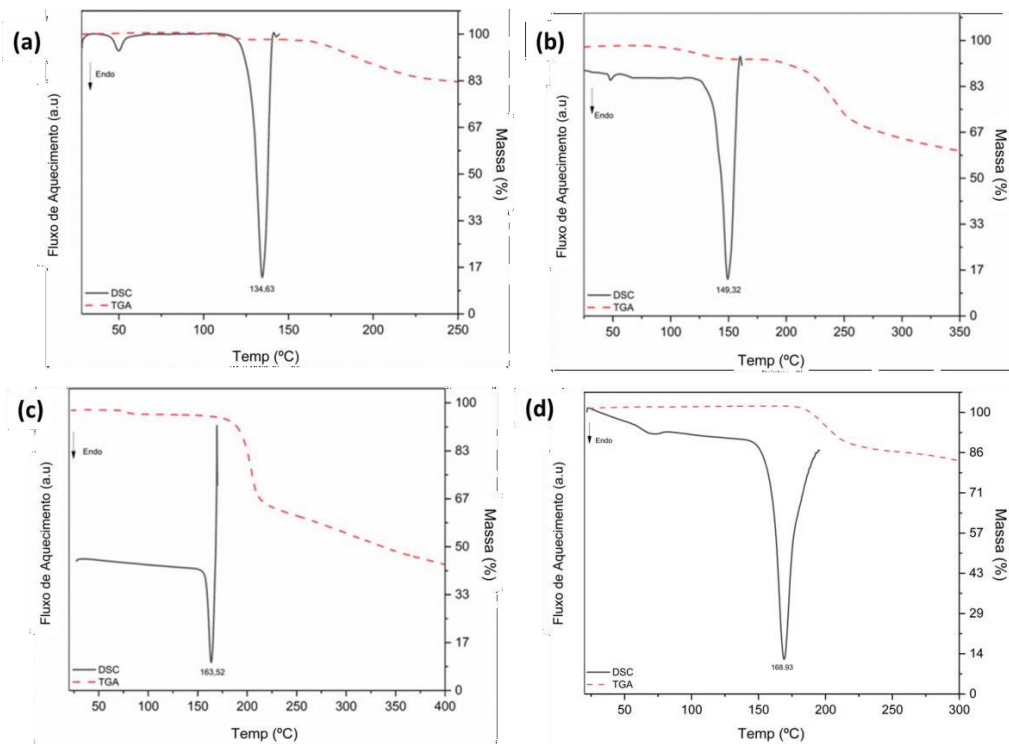


Figura 26 – Curvas DSC e TGA dos sais: (a) $\text{HACV}\cdot\text{HSO}_4$, (b) $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$, (c) $\text{HACV}\cdot\text{NO}_3$ e (d) $\text{HACV}\cdot\text{BrC}$.

Fonte: Elaborada pelo autor

A estabilidade térmica pode ser associada com a quebra da estrutura cristalina mediante a exposição ao processo de aquecimento em condições experimentais adequadas para os experimentos de DSC/TGA. O comportamento térmico observado a partir dos dados da análise via TGA dos sais, permite estabelecer uma ordem de estabilidade térmica baseada na degradação dos compostos, em ordem: $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$, $\text{HACV}\cdot\text{BrC}$, $\text{HACV}\cdot\text{NO}_3$ e $\text{HACV}\cdot\text{HSO}_4$. De acordo com os dados coletados o processo de degradação se inicia em $165 \text{ }^\circ\text{C}$, $187 \text{ }^\circ\text{C}$, $180 \text{ }^\circ\text{C}$ e $174 \text{ }^\circ\text{C}$ para $\text{HACV}\cdot\text{HSO}_4$, $\text{HACV}\cdot\text{Cl}$, $\text{HACV}\cdot\text{NO}_3$ e $\text{HACV}\cdot\text{BrC}$, respectivamente.

4.7 Análises Espectroscópicas

As análises espectroscópicas do ACV e dos sais HACV·Cl, HACV·HSO₄, HACV·NO₃ e HACV·BrC foram realizadas para confirmar a formação dos sais por meio da identificação dos modos vibracionais referentes a estas formas. Os espectros Raman e Infravermelho do ACV confirmam que a forma utilizada corresponde à forma sesqui-hidratada⁶¹. Já a formação dos sais foi identificada avaliando as mudanças em alguns modos vibracionais nos espectros das novas formas sólidas quando comparados aos espectros do IFA utilizado, relacionados a protonação do átomo N5 localizado no grupo imidazolium e ao átomo N3 localizado no anel de pirimidina além da presença de novos picos associados a novas ligações de hidrogênio entre o IFA e os ânions. A atribuição das bandas está listada na Tabela 3.

Tabela 4 – Atribuição das bandas espectroscópicas

	ACV		HACV·HSO ₄		HACV·Cl		HACV·NO ₃		HACV·BrC	
	IR	Raman	IR	Raman	IR	Raman	IR	Raman	IR	Raman
$\nu(\text{C-N})$	1185	1355	1164	1341	1182	1338	1151	1336	1182	1342
$\nu(\text{C=N})$	1485	1611	1487	1610	1483	1604	1485	1600	1483	1607
$\nu(\text{C=O})$	1693	1630	1714	1703	1693	1703	1708	1717	1695	1700
$\nu(\text{N-H})$	—	3475	3417	3152	3523	3312	3425	3321	3546	3306
$\nu(\text{NO}_3)$	—	—	—	—	—	—	1384	1282	—	—
$\nu(\text{SO})$	—	—	1054	1020	—	—	—	—	—	—

Fonte: Elaborada pelo autor

Os espectros infravermelhos (Figura 27) mostram as frequências associadas aos modos de vibração $\nu(\text{N-H})$ referentes a protonação das regiões do anel imidazolium nos sais Hacv·Cl (3523 cm⁻¹), HACV·NO₃ (3425 cm⁻¹) e HACV·HSO₄ (3417 cm⁻¹) e na região do anel de pirimidina para HACV·BrC (3546 cm⁻¹) não presentes no ACV. Os ácidos inorgânicos utilizados como coformadores das novas formas sólidas apresentam diferentes características, sendo possível dividi-los em duas categorias: Formador de interações observáveis via espectroscopia (FO) e Formadores de interações não observáveis (FNO), em (FO) temos os ânions HSO₄⁻ e NO₃⁻, que

apresentam bandas de $\nu(\text{SO})$ e $\nu(\text{NO}_3)$ em 1054 cm^{-1} e 1384 cm^{-1} , respectivamente. Já em FNO temos os ânions Cl^- e Br^- .

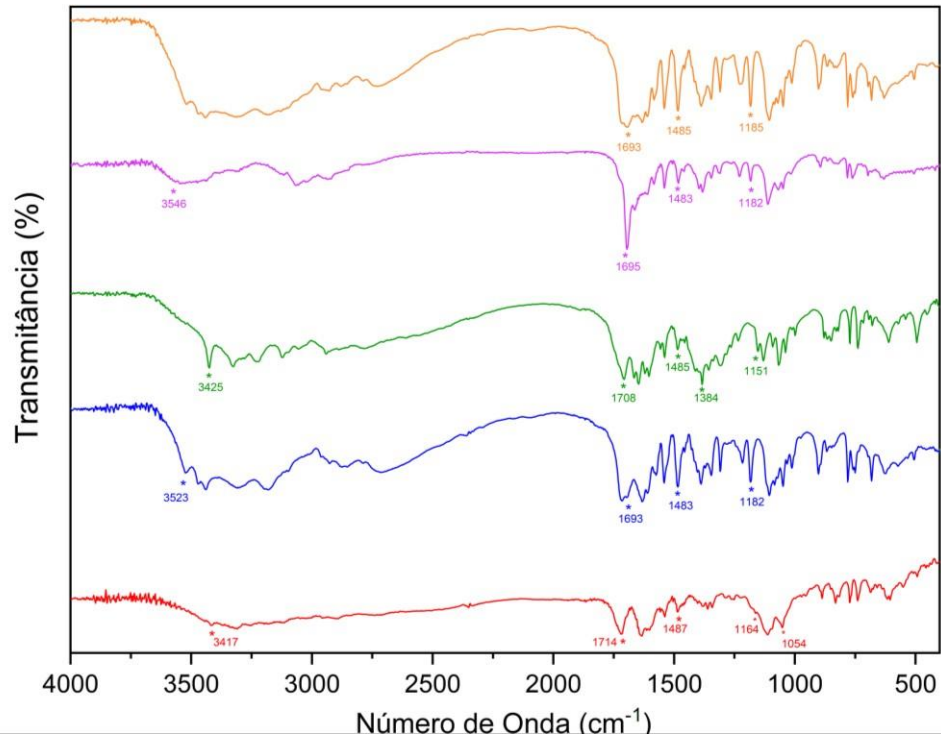


Figura 27 – Espectros Infravermelho do ACV (Laranja), HACV·BrC (Roxo), HACV·NO₃, (Verde), HACV·Cl (Azul) e HACV·HSO₄ (Vermelho).

Fonte: Elaborada pelo autor

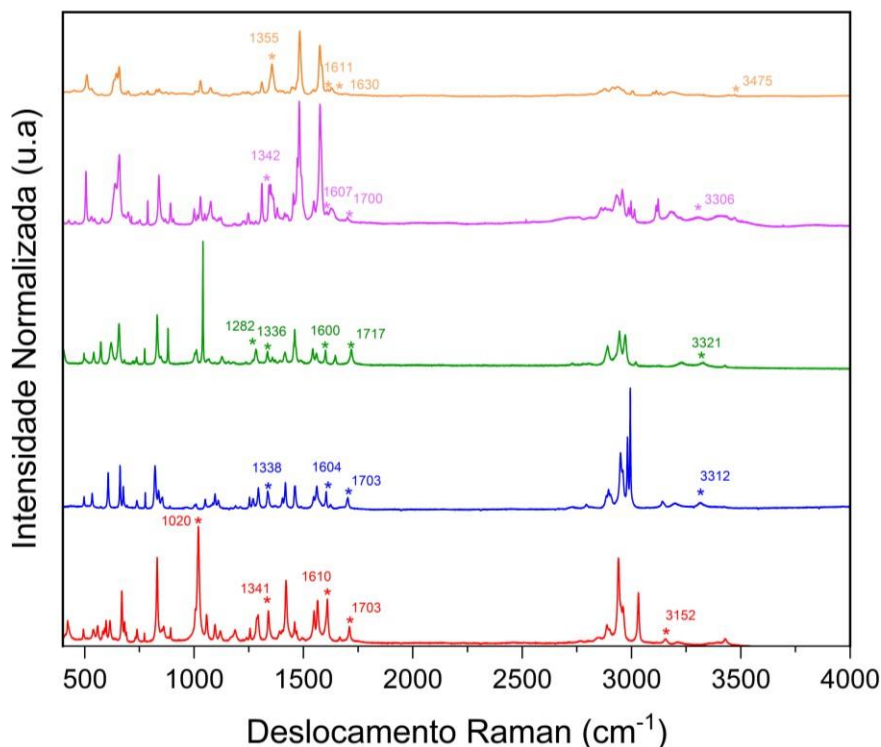


Figura 28 – Espectros Raman do ACV (Laranja), HACV·BrC (Roxo), HACV·NO₃, (Verde), HACV·Cl (Azul) e HACV·HSO₄ (Vermelho).

Fonte: Elaborada pelo autor

O espectro Raman dos ânions HSO₄⁻ e NO₃⁻ (FO) apresentam bandas de estiramento $\nu(\text{SO})$ e $\nu(\text{NO}_3)$ em 1020 cm⁻¹ e 1282 cm⁻¹, respectivamente. Como esperado, não foi possível observar as bandas correspondentes aos ânions Cl⁻ e Br⁻ (FNO) nos espectros dos sais Hacv·Cl e HACV·BrC. Uma nova banda de $\delta(\text{N-H})$ surgiu no espectro Raman dos sais HACV·HSO₄ (3152 cm⁻¹), HACV·Cl (3312 cm⁻¹), HACV·NO₃ (3321 cm⁻¹), HACV·BrC (3306 cm⁻¹) e HACV·Br (3075 cm⁻¹) o que confirma a protonação dos anéis imidazolium e pirimidinium do aciclovir para a formação dos sais.

4.8 Solubilidade em Equilíbrio

Solubilidade é uma importante propriedade físico-química de um IFA relacionada com a sua absorção oral, por conseguinte, com a sua atividade farmacológica. Nesse sentido, investigar o comportamento desta propriedade em novas formas sólidas, permite iniciar propostas para o reposicionamento farmacêutico. O ACV em sua forma comercial, junto com sua forma anidra possuem problemas de solubilidade/permabilidade⁶¹, o que posiciona esse IFA como pertencente a classe III ou IV, a depender da concentração administrada^{62,63}. Para avaliar a solubilidade aquosa do ACV e seus sais, os compostos foram medidos em soluções aquosas

(a concentração dos compostos de aciclovir em soluções aquosas saturadas com presença de corpo de fundo) dos compostos: ACV, HACV·HSO₄, HACV·Cl, HACV·NO₃ e HACV·Br. No casoda existência das duas formas polimórficas do sal HACV·Br, apenas a forma HACv·BrC foi obtida de forma isolada, portanto apenas essa forma foi utilizada.

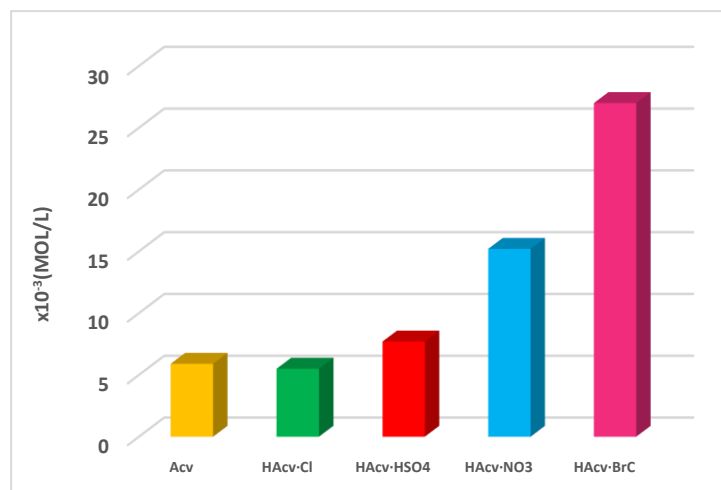


Figura 29 - Solubilidade aquosa dos sais HACV·HSO₄, HACV·Cl, HACV·NO₃ e HACV·BrC

Fonte: Elaborada pelo autor

De acordo com a Figura 28, é possível observar que os novos sais apresentam diferentes valores para suas solubilidades aquosas quando comparados ao IFA em sua forma comercial, podendo dividi-los em duas categorias: Solubilidade Aumentada (SA) e Solubilidade Reduzida (SR).

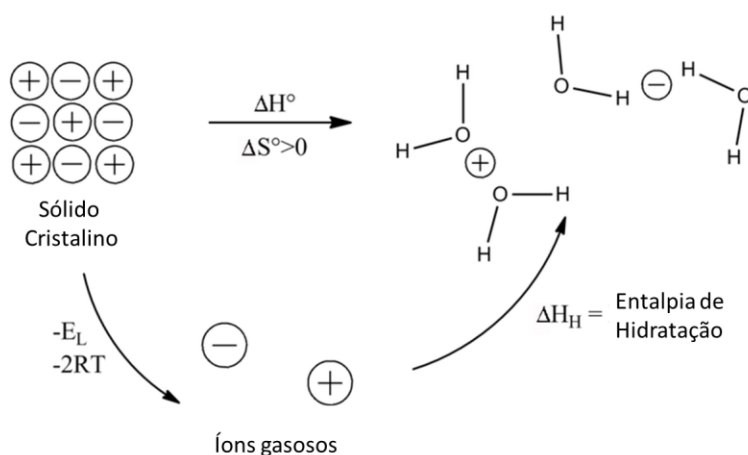
Na categoria SR temos o sal HACV·Cl, que possui uma solubilidade 7% mais baixa quando comparado ao IFA de referência. Já na categoria SA temos os sais: HACv·HSO₄, HACv·NO₃ e HACv·BrC, que possuem solubilidade 30%, 157% e 357%, respectivamente. Os sais apresentam solubilidades relativas de: 5.5 mM (HACV·Cl), 7.7 mM (HACV·HSO₄), 15.7 mM (HACV·NO₃) e 27.0 mM (HACV·BrC) sendo 2.5 (HACV·HSO₄) e 1.8(HACV·NO₃) vezes mais solúveis quando comparados ao ACV.

4.9 Relação Estrutura- Solubilidade

Relacionar propriedades físico-químicas a características estruturais é um dos pontos fundamentais para um melhor entendimento do comportamento de sólidos farmacêuticos, permitindo o avanço no desenvolvimento de soluções para os problemas encontrados nestes

compostos. Para isso, um dos fatores que podemos utilizar para indicar uma relação estrutura-propriedades físico-química, neste caso a solubilidade aquosa, é a energia de rede.

Levando em consideração o ciclo de Born-Haber (esquema 4), é possível inferir que uma menor energia de rede (em valores absolutos), indica uma maior solubilidade aquosa a depender da entalpia de hidratação⁶⁴. Nesse cenário a Tabela 4 apresenta os valores das energias de rede para os sais: HACV·BrC, HACV·BrP e HACV·Cl:



Esquema 4 – Resumo do Ciclo de Born-Haber adaptado.

Tabela 5 - Valores de Energia de Rede e Solubilidade

	HACV·BrC	HACV·BrP	HACV·Cl
Energia de Rede (kJ/Mol)	-267.05	-225.35	-180.45
Solubilidade ($\times 10^{-3}$ Mol/L)	27.0	-	5

Fonte: Elaborada pelo autor.

A diferença estrutural entre o HACV·BrP e o HACV·BrC, se vê reforçada nas Figuras 30-31, onde é possível verificar a significativa diferença entre interações intermoleculares, evidenciando a mudança no empacotamento cristalino.

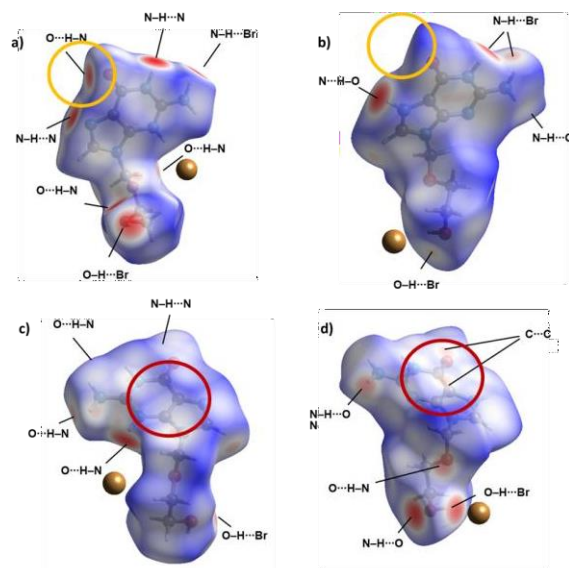


Figura 30 – HS mapeada em d_{norm} dos sais a) e c) HACv·BrC e b) e d) HACv·BrP

Fonte: Elaborada pelo autor

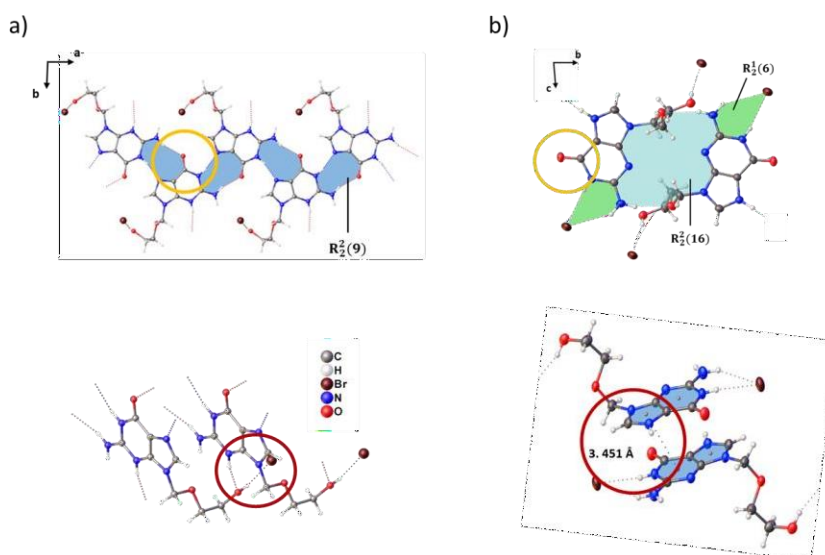


Figura 31 – Diferença nas ligações que influenciam no empacotamento dos sais a) HACv·BrC e b) HACv·BrP, em laranja diferença nos arranjos planares e em vermelho diferença nas ligações de união dos arranjos.

Fonte: Elaborada pelo autor

Com a Figura 30, é possível observar a variação das ligações intermoleculares: Num primeiro cenário, o surgimento da ligação N–H...O envolvendo o O1 do anel de pirimidina no sal HACV·BrC, que não estava presente em HACV·BrP (destacados em laranja) e num segundo cenário temos o desaparecimento das ligações tipo $\pi\cdots\pi$ (destacadas em vermelho), observadas no sal HACV·BrP e não HACV·BrC. Para o primeiro cenário, essa mudança reflete diretamente na organização das moléculas criando diferentes arranjos como evidenciado em laranja na Figura 31 em que para o sal HACV·BrC possuímos *sintons* que podem ser mais facilmente desfeitos quando comparados aos presentes no sal HACV·BrP.

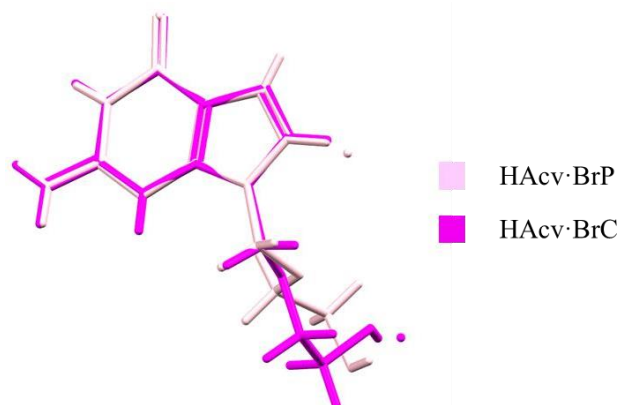


Figura 32 – Comparativo conformacional entre HACV·BrP e HACV·BrC

Fonte: Elaborada pelo autor

Já para o segundo cenário, a variação conformacional envolvendo os átomos ligados em cadeia (C6 até O3) é evidenciada na Figura 32. Esta variação conformacional leva a diferentes arranjos e por conseguinte a diferentes empacotamentos cristalinos. A conexão gerada pela interação do tipo $\pi \cdots \pi$, contribui também ativamente para que se torne mais difícil a separação das ligações do sal HACV·BrP, tornando-o mais resistente à separações quando comparada a conexão que estabiliza os arranjos do sal HACV·BrC, gerada pela ligação envolvendo O3-H \cdots N3.

Avaliando esse cenário estrutural e relacionando com as energias de rede calculadas, é possível propor que a solubilidade da forma HACV·BrP do sal HACV·Br seria intermediária entre a apresentada pela forma HACV·BrC e ainda superior ao sal HACV·Cl de acordo com as energias de rede medidas.

Vemos assim que as mudanças na rede de interações intermoleculares originadas na diferença de protonação das formas sólidas do ACV conduzem a uma mudança clara no empacotamento cristalino e por conseguinte na energia de rede que se vê refletida no incremento drástico da solubilidade. Também é possível extrapolar a existência de outras formas como por exemplo o sal HACV·ClC, que apresentaria uma protonação diferente, a qual teria um valor de solubilidade aquosa superior a forma encontrada nesse trabalho. A procura por estas novas formas sólidas ainda não relatadas assim como o aprofundamento do estudo do efeito da protonação na solubilidade e seu efetivo controle será tema de futuras investigações.

5 Conclusões

Com intuito de desenvolver novas formas sólidas com propriedades farmacocinéticas melhoradas de fármacos candidatos ao reposicionamento farmacêutico como alternativa para o combate a pandemia de Covid-19, quatro novos sais farmacêuticos do insumo farmacêutico Aciclovir (ACV) foram estudados: HACV·HSO₄, HACV·NO₃, HACV·BrC e HACV·BrP. Esses novos sais em conjunto com o sal HACV·Cl foram caracterizados utilizando técnicas de estado sólido, bem como foram realizados estudos para avaliar a solubilidade relativa em meio aquoso. O estudo das estruturas cristalinas junto com a avaliação por meio dos dados espectroscópicos, revelaram a existência de duas regiões de protonação: uma na região do anel imidazolium (N5) e outra na região do anel de pirimidina (N3). Esta diferença na protonação leva a uma diferença nas interações intermoleculares que por sua vez se vê refletida na energia de rede e num incremento na solubilidade. Os resultados das análises térmicas (DSC/TGA) dos sais permitiram estabelecer uma hierarquia de estabilidade térmica baseada no início do processo de decomposição mediante aquecimento: HACV·Cl > HACV·BrC > HACV·NO₃ > HACV·HSO₄. Uma correlação estrutural entre HACV·Cl, HACV·BrC e HACV·BrC permitiu inferir a possibilidade de existência de outras formas sólidas e de possíveis melhorias em suas propriedades físico-químicas como a solubilidade aquosa, permitindo evidenciar a influência da estrutura nas propriedades destes compostos. Já a análise de solubilidade aquosa permitiu identificar que os sais (HACV·BrC, HACV·NO₃ e HACV·HSO₄) foram mais solúveis que o IFA de referência. Com isso, baseado nas propriedades/características dos novos compostos apresentado nesse trabalho, percebe-se que para ter uma melhor compreensão de suas propriedades farmacológicas é necessária estudar melhor a relação entre as modificações de estado sólidos realizadas no fármaco aciclovir e as alterações em seu comportamento farmacocinético, deixando como possíveis passos futuros a realização de estudos correlacionando análises teóricas de primeiros princípios com estudos experimentais da Densidade de Carga Eletrônica, além de estudos em função da pressão, que permitirão compreender de maneira mais assertiva o comportamento deste fármaco, possibilitando o desenho de novas formas sólidas com propriedades ainda mais interessantes

REFERÊNCIAS

- 1 PAYNE, S. Family coronaviridae. *In*: PAYNE, S. **Viruses**. Berlin: Elsevier, 2017. p. 149–158.
- 2 LI, G. *et al.* Coronavirus infections and immune responses. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 4, p. 424–432, Apr. 2020.
- 3 NOGUEIRA, V. J. D.; SILVA, C. M. Conhecendo a origem do SARS-COV-2 (COVID 19). **Revista Saúde e Meio Ambiente-RESMA**, n. 11, n. 2, p. 115–124, 2020.
- 4 COSTA, V. G.; MORELI, M. L.; SAIVISH, M. V. The emergence of SARS, MERS and novel SARS-2 coronaviruses in the 21st century. **Archives of Virology**, v. 165, n. 7, p. 1517–1526, July 2020.
- 5 HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, Feb. 2020.
- 6 CIOTTI, M. *et al.* The COVID-19 pandemic. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 57, n. 6, p. 365–388, Aug. 2020.
- 7 ZEIDLER, A.; KARPINSKI, T. M. SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 comparison of three emerging coronaviruses. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 13, n. 6, July 2020.
- 8 PEREIRA, A.; CRUZ, K. A. T.; LIMA, P. S. Principais aspectos do novo coronavírus SARS-CoV-2: uma ampla revisão. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 1, p. 73–90, Apr. 2021.
- 9 ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 8, p. 673–683, Aug. 2004.
- 10 SAHOO, B. M. *et al.* Drug repurposing strategy (DRS): emerging approach to identify potential therapeutics for treatment of novel coronavirus infection. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, Feb. 2021. DOI: 10.3389/fmolb.2021.628144.
- 11 GAO, Y. *et al.* Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. **Science**, v. 368, n. 6492, p. 779–782, May 2020.
- 12 SU, M. *et al.* Availability, cost, and prescription patterns of antihypertensive medications in primary health care in China: a nationwide cross-sectional survey. **Lancet**, v. 390, n. 10112, p. 2559–2568, Dec. 2017.
- 13 PHILIPS, D. J. **Pfizer’s expiring Viagra patent adversely affects other drugmakers too**. Disponível em: <https://www.forbes.com/sites/investor/2013/12/20/pfizers-expiring-viagra-patent-adversely-affects-other-drugmakers-too>. Acesso em: 23 jan. 2013.
- 14 ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 8, p. 673–683, Aug. 2004.
- 15 NIE, Z.; SUN, T.; ZHAO, F. Safety and efficacy of antiviral drugs for the treatment of COVID-19: a systematic review. **Infection and Drug Resistance**, v.15, p. 4457–4466, 2022. DOI: 10.2147/IDR.S362946.

- 16 MARTINEZ, M. A. Efficacy of repurposed antiviral drugs: lessons from COVID-19. **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 7, p. 1954–1960, July 2022.
- 17 SHAIK, S.; SOUNDHARARAJAN, R.; SRINIVASAN, H. Repurposing of drugs targeted against COVID-19 spike receptor for treatment: an in silico approach. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 13740–13753, 2021.
- 18 HEIDARY, F. *et al.* Acyclovir as a potential add-on therapy in COVID-19 treatment regimens. **Pharmaceutical Sciences**, v. 27, Suppl. 1, p. S68-S77, 2021.
- 19 GUO, D. Old weapon for new enemy: drug repurposing for treatment of newly emerging viral diseases. **Virologica Sinica**, v. 35, n. 3, p. 253–255, Feb. 2020.
- 20 KUMAR, D. *et al.* **Promising Acyclovir and its derivatives to inhibit the protease of SARS-CoV-2: molecular docking and molecular dynamics simulations.** 2020. DOI: 10.21203/rs.3.rs-94864/v1.
- 21 AGILENT TECHNOLOGIES LTD, Y. O. **CrysalisProYarnton Oxfordshire.** 2022.
- 22 ARUNKUMAR, B. *et al.* Molecular docking study of acyclovir and its derivatives as potent inhibitors in novel COVID-19. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 11, n. 9, p. 4700, 2020.
- 23 SHELDRIK, G. M. SHELXT - integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallographica Section A: foundations of crystallography**, v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015.
- 24 WANG, L. *et al.* Polymorphs of acyclovir-maleic acid salt and their reversible phase transition. **Journal of Molecular Structure**, v. 1127, p. 247–251, 2017. DOI: 10.1016/j.molstruc.2016.07.103.
- 25 SHELDRIK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallographica Section C: structural chemistry**, v. 71, Pt. 1, p. 3–8, 2015.
- 26 SAVJANI, J. K.; PATHAK, C. Improvement of physicochemical parameters of acyclovir using cocrystallization approach. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 4, p. 727–734, 2016.
- 27 DOLOMANOV, O. V. *et al.* OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **Journal of Applied Crystallography**, v. 42, n. 2, p. 339–341, 2009.
- 28 YAN, Y.; CHEN, J. M.; LU, T. B. Simultaneously enhancing the solubility and permeability of acyclovir by crystal engineering approach. **CrystEngComm**, v. 15, n. 33, p. 6457–6460, 2013.
- 29 SPACKMAN, P. R. *et al.* CrystalExplorer: a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals. **Journal of Applied Crystallography**, v. 54, n. 3, p. 1006–1011, 2021.
- 30 LUTKER, K. M. *et al.* Polymorphs and hydrates of acyclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 949–963, 2011.
- 31 SPACKMAN, M. A.; JAYATILAKA, D. Hirshfeld surface analysis. **CrystEngComm**, v. 11, n. 1, p. 19–32, 2009.

- 32 ARNAL, J. *et al.* Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Aciclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 12, p. 5061–5073, 2008.
- 33 MACRAE, C. F. *et al.* Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, n. 3, p. 453–457, 2006.
- 34 GARG, U.; AZIM, Y. Challenges and opportunities of pharmaceutical cocrystals: a focused review on non-steroidal anti-inflammatory drugs. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 705–721, 2021.
- 35 PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 491–502, 2007.
- 36 BELL, R. P. **The proton in chemistry**. 2nd ed. Amsterdam: Springer, 1973.
- 37 GARDNER, C. R.; WALSH, C. T.; ALMARSSON, Ö. Drugs as materials: valuing physical form in drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 11, p. 926–34, 2004.
- 38 DEAN, J. A.; LANGE, N. A. **Lange's handbook of chemistry**. New York: McGraw-Hill, 1999.
- 39 GROTHE, E. *et al.* Solvates, salts, and cocrystals: a proposal for a feasible classification system. **Crystal Growth & Design**, v. 16, n. 6, p. 3237–3243, 2016.
- 40 KEMNITZ, E.; WEBER, C.; TROJANOV, S. Reinvestigation of crystalline sulfuric acid and oxonium hydrogensulfate. **Acta Crystallographica Section C: crystal structure communications**, v. 52, n. 11, p. 2665–2668, 1996.
- 41 BYRN, S. R.; XU, W.; NEWMAN, A. W. Chemical reactivity in solid-state pharmaceuticals: formulation implications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 115, 2001
- 42 SHETH, A. R.; GRANT, D. J. W. Relationship between the structure and properties of pharmaceutical crystals. **KONA Powder and Particle Journal**, v. 23, n. 0, p. 36–48, 2005.
- 43 GUILLORY, J. K. Handbook of pharmaceutical salts: properties, selection, and use edited by P. Heinrich Stahl and Camile G. Wermuth. VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, and Wiley-VCH, Weinheim, Germany. 2002. viii + 374 pp. 17.5 × 24.5 cm. ISBN 3-906390-26-8. \$130.00. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 1277–1277, Mar. 2003.
- 44 WOUTERS, J.; QUÉRÉ, L. (ed.). **Pharmaceutical salts and co-crystals**. New York: Royal Society of Chemistry, 2011.
- 45 BERGE, S. M.; BIGHLEY, L. D.; MONKHOUSE, D. C. Pharmaceutical salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 66, n. 1, p. 1–19, Jan. 1977.
- 46 SAAL, C.; BECKER, A. Pharmaceutical salts: a summary on doses of salt formers from the orange book. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 614–623, July 2013.

- 47 ELDER, D. P.; HOLM, R.; DIEGO, H. L. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 88–100, Aug. 2013.
- 48 CHILDS, S. L.; STAHLY, G. P.; PARK, A. The salt–cocrystal continuum: the influence of crystal structure on ionization state. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 323–338, June 2007.
- 49 KUMAR, L.; AMIN, A.; BANSAL, A. Salt selection in drug development. **Pharmaceutical Technology**, v. 32, n. 3, Apr. 2008.
- 50 CRUZ-CABEZA, A. J.; REUTZEL-EDENS, S. M.; BERNSTEIN, J. Facts and fictions about polymorphism. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 23, p. 8619–8635, 2015.
- 51 DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: from molecule to crystal. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 27, p. 9952–9967, July 2013.
- 52 CRUZ-CABEZA, A. J. Acid–base crystalline complexes and the pKa rule. **CrystEngComm**, v. 14, n. 20, p. 6362, 2012.
- 53 DUGGIRALA, N. K. *et al.* Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. **Chemical Communications**, v. 52, n. 4, p. 640–655, 2016.
- 54 DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: a brief overview. **Journal of Chemical Sciences**, v. 122, n. 5, p. 667–675, Sept. 2010.
- 55 DESIRAJU, G. R. Crystal engineering: a holistic view. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 44, p. 8342–8356, Nov. 2007.
- 56 BOSCH, E. Role of sp-C–H---N hydrogen bonding in crystal engineering. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n. 8, p. 3808–3813, Aug. 2010.
- 57 BRITAIN, H. G. Cocrystal systems of pharmaceutical interest: 2010. **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 2, p. 1046–1054, Feb. 2012.
- 58 HILFIKER, R.; BLATTER, F.; RAUMER, M. VON. Relevance of Solid-state Properties for Pharmaceutical Products. *In*: HILFIKER, R. (ed.). **Polymorphism**. Weinheim: Wiley, 2006. p. 1–19.
- 59 TRASK, A. V. An overview of pharmaceutical cocrystals as intellectual property. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 301–309, June 2007.
- 60 NOWAC, W. GOLDYN, M. KOMASA A *et al.* Novel Adducts of Acyclovir with 2,6-Dihydroxybenzoic Acid: Synthesis and Structural, Theoretical, and Spectroscopic Analyses. **Crystal Growth and Design**, v.23, n. 11, p. 7669-7679, November 2023.
- 61 ARNAL, J. GONZALEZ-ALVAREZ, I. *et al.* Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: aciclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 97, n. 12, p. 5061–5073, Dec. 2008.
- 62 SAVJANI, J.K.; PATHAK, C. Improvement of physicochemical parameters of acyclovir using cocrystallization approach. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 52, n.4, p. 727–734, Dec. 2016.

63 SHAMSHINA, J.L. COJOCARU, O.A. ET AL. Acyclovir as an ionic liquid cation or anion can improve aqueous solubility. **American Chemistry Society Omega**, v.2, n. 7, p. 3483–3493, July **2017**.

64 KULESHOVA, L.N., HOFMANN, D.W.M., BOESE, R. Lattice energy calculation – a quick tool for screening of cocrystals and estimation of relative solubility. Case of flavonoids. **Chemical Physics Letters**, v.564, n. 6, p. 26-32, July **2013**.

ANEXOS

Anexo A – Artigo Publicado

Nunes, P., Santiago, P. H. D. O., da Silva, C. C. P., & Ellena, J. (2023). Drug Repurposing of the Antiviral Drug Acyclovir: New Pharmaceutical Salts. *Crystals*, 13(5), 782. DOI: doi.org/10.3390/cryst13050782.



Article

Drug Repurposing of the Antiviral Drug Acyclovir: New Pharmaceutical Salts

Paulo Nunes, Pedro Henrique de Oliveira Santiago, Cecilia Carolina Pinheiro da Silva and Javier Ellena * 

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 369, São Carlos 13560-970, SP, Brazil; paulo.nellusp.br (P.N.); pedrophs.santiago@gmail.com (P.H.D.O.S.)

* Correspondence: javien@ifsc.usp.br; Tel.: +55-1633738096

Abstract: Drug repurposing is becoming interesting in terms of offering advantages over the traditional drug development, once drug discovery is a costly, time-consuming, and highly risky process. In particular, with the coronavirus disease (COVID-19) declared by World Health Organization as a global pandemic, there has emerged a considerable need to develop therapeutic agents capable of preventing viral outbreaks. Concomitantly, well-known and long-used drugs such as acyclovir (Acv) have been tested against COVID-19. Acv is a guanosine analogue that acts as an antiviral drug, commonly used to treat herpes simplex virus (HSV), genital herpes, and varicella zoster virus (VZV). Acv showed to inhibit viral proteases, multiple viral genes expression, and RNA-Dependent RNA Polymerase, helping to recover COVID-19 patients. However, ACV is a BCS class III/IV drug, with low permeability and/or slight water solubility (concentration-dependent). Given the repurposing eligibility of Acv, in this work, two new salts of this drug are presented (nitrate and sulfate), with the aim of improving its pharmacokinetic properties. The new salts were evaluated by X-ray diffraction, and thermal and spectroscopic analyses. A third salt, a chloride one, was also characterized and used for comparison.

Keywords: pharmaceutical salts; COVID-19; drug repurposing



Citation: Nunes, P.; Santiago, P.H.D.O.; da Silva, C.C.P.; Ellena, J. Drug Repurposing of the Antiviral Drug Acyclovir: New Pharmaceutical Salts. *Crystals* 2023, 13, 782. <https://doi.org/10.3390/cryst13050782>

Academic Editors: Duarte Choquesillo-Lazareo and Alicia Dominguez-Martin

Received: 4 April 2023

Revised: 28 April 2023

Accepted: 5 May 2023

Published: 8 May 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) are usually available in a crystalline or amorphous state, spread through several dosage forms such as capsules, powders, suspensions, or gels, and are largely orally administered as pills or tablets, which represent the most convenient, compact, and economical way to deliver them to the population [1,2]. In particular, crystalline APIs are more attractive than non-crystalline APIs (amorphous), due to their thermodynamic stability, purity, and manufacturability. However, in the crystalline state, APIs may exist in several different solid forms, such as salts, co-crystals, hydrates, and solvates. Beyond exhibiting polymorphism, each of them presenting specific properties (melting point, solubility, hygroscopicity, etc.) that can affect the quality and safety of a medicine [3].

More than 40% of commercially available APIs exhibit bioavailability issues. The development of new crystalline solid forms of APIs could be an effective strategy to improve their pharmacokinetic and pharmacodynamic properties [4,5]. Scientists worldwide have noticed that modifications in the properties of APIs promote, in some cases, secondary health effects, thus opening doors to a new area inside the pharmacy field: Drug Repurposing (DR). In this sense, DR has become a good strategy in terms of offering advantages over traditional drug development, as it is a costly, time-consuming, and risky process [6]. Recently, given the pandemic caused by the new coronavirus, SARS-CoV-2, termed by the World Health Organization as coronavirus disease 2019 (COVID-19), a huge need for the development of therapeutic agents capable of preventing virus outbreak emerged. In this scenario, DR gained force and several APIs, especially antivirals, were investigated in an attempt to be used in the treatment of COVID-19 [6,7].

APÊNDICES

APÊNDICE A – Mapas bidimensionais do tipo *fingerprint*

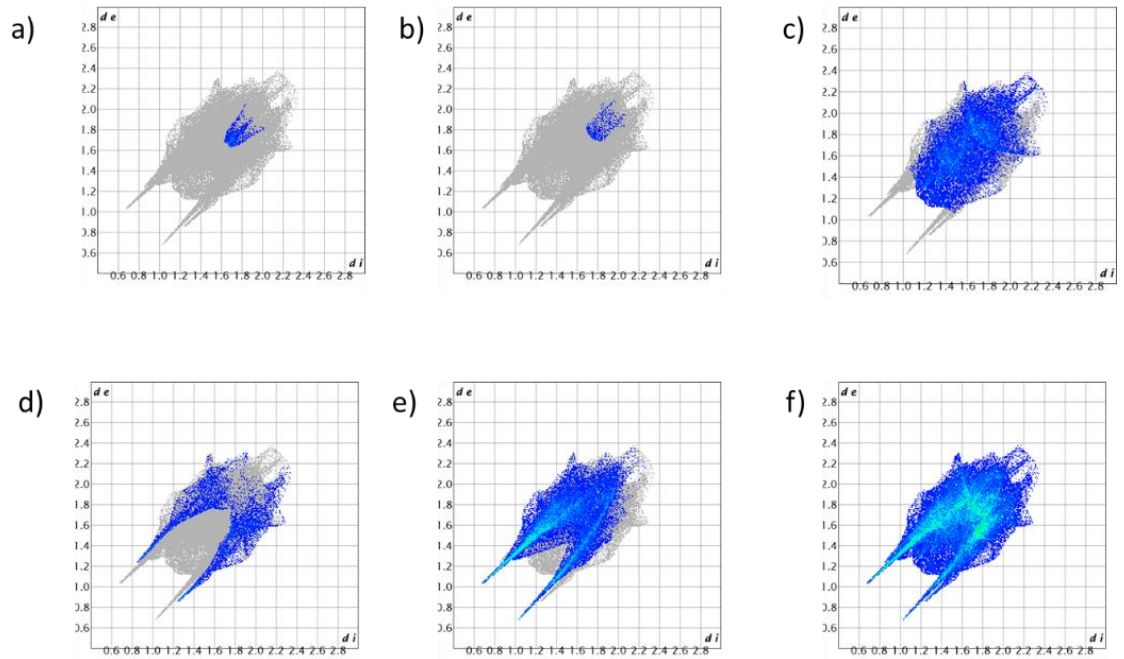


Figura A1 - Mapas *fingerprint* dos contatos (a) C-C (b) C-N (c) H-H (d) N-H (e) O-H e (f) Total do $\text{HAcv}\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$.

Fonte: Elaborada pelo autor

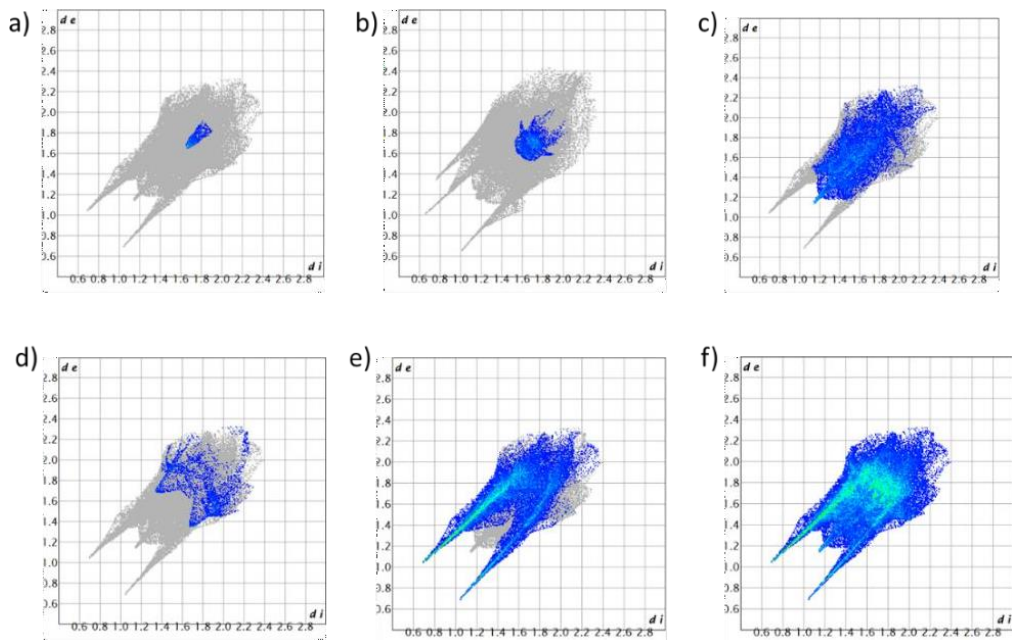


Figura A2 - Mapas *fingerprint* dos contatos (a) C-C (b) C-N (c) H-H (d) N-H (e) O-H e (f) Total do sal $\text{HAcv}\cdot\text{NO}_3$.

Fonte: Elaborada pelo autor

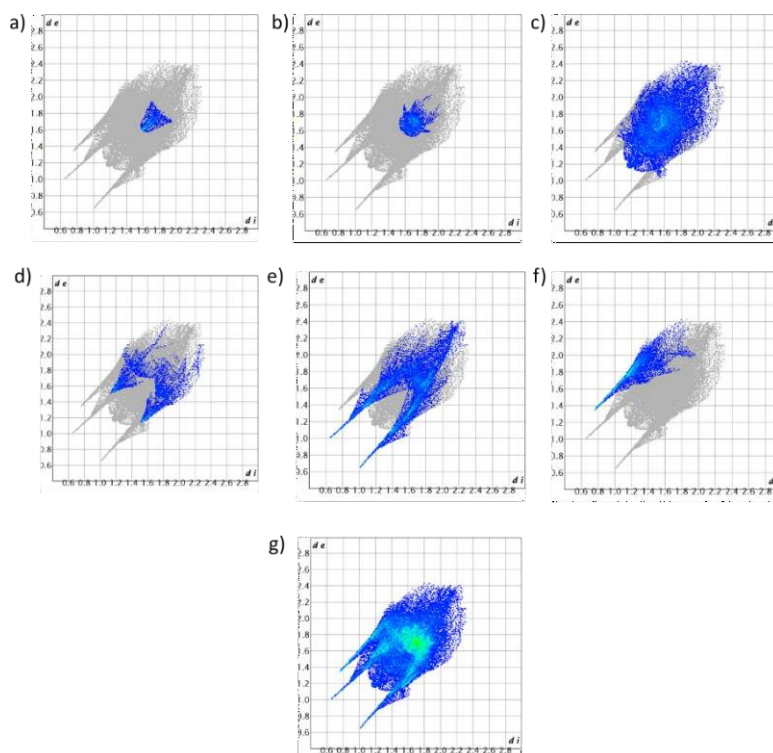


Figura A3 - Mapas *fingerprint* dos contatos (a) C-C (b) C-N (c) H-H (d) N-H (e) O-H (f) H-Cl e (g) Total do sal HACv·Cl

Fonte: Elaborada pelo autor

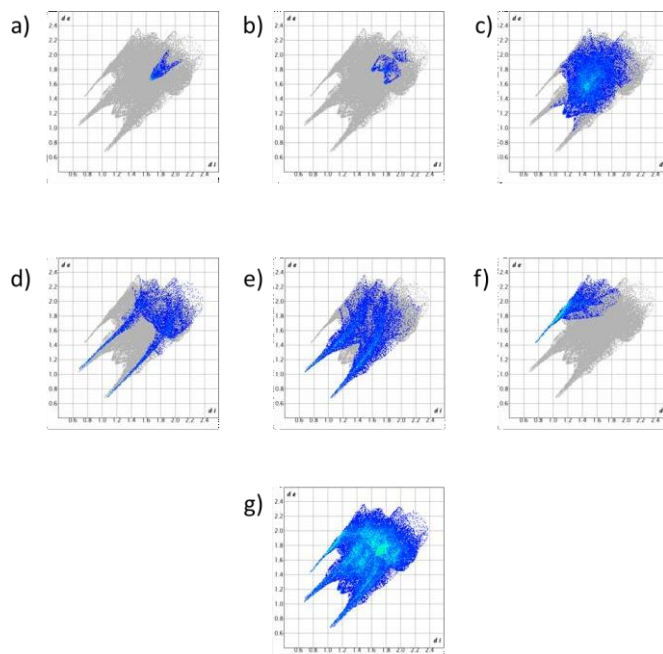


Figura A4 - Mapas *fingerprint* dos contatos (a) C-C (b) C-N (c) H-H (d) N-H (e) O-H (f) H-Cl e (g) Total do sal HACv·BrC

Fonte: Elaborada pelo autor

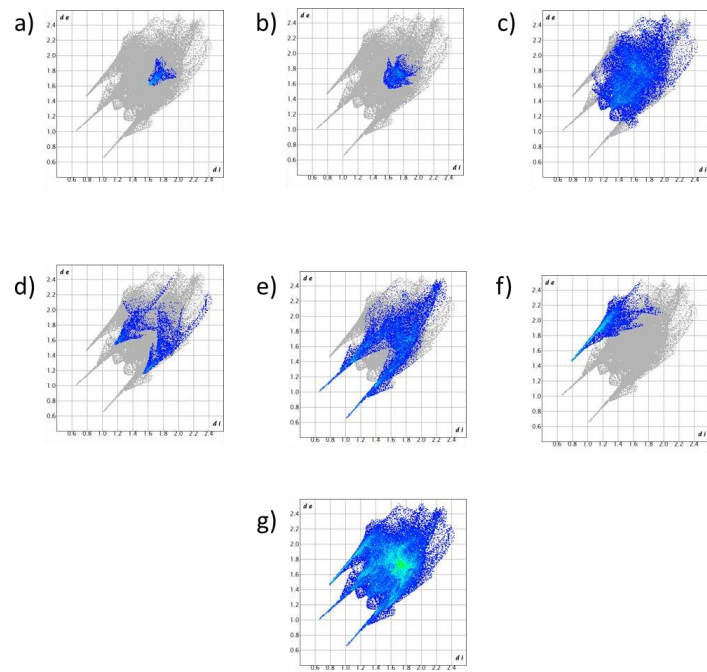


Figura A5 - Mapas *fingerprint* dos contatos (a) C-C (b) C-N (c) H-H (d) N-H (e) O-H (f) H-Cl e (g) Total do sal HACv·BrP

Fonte: Elaborada pelo autor.

APÊNDICE B –

APÊNDICE B-Tabelas de Informação de ligações

Tabela A1 – Comprimentos de Ligação para os sais de ACV

	HAcv·HSO₄		HAcv·NO₃		HAcv·Cl		HAcv·BrC		HAcv·BrP
Átomo- Átomo	Comprimento (Å)	Átomo- Átomo	Comprimento (Å)	Átomo- Átomo	Comprimento (Å)	Átomo- Átomo	Comprimento (Å)	Átomo- Átomo	Comprimento (Å)
S1-O6	1.4461(10)	O1-C4	1.234(5)	O2-C7	1.447(2)	O2-C7	1.437(4)	O2-C7	1.432(2)
S1-O7	1.4641(10)	O2-C7	1.445(5)	O2-C6	1.401(2)	O2-C6	1.414(5)	O2-C6	1.388(2)
S1-O4	1.4436(10)	O2-C6	1.389(5)	O3-C8	1.441(2)	O3-C8	1.421(5)	O3-C8	1.423(2)
S1-O5	1.5766(9)	O5-N6	1.269(4)	O1-C2	1.222(2)	O1-C2	1.236(5)	O1-C2	1.2137(19)
O2-C6	1.3956(16)	O3-C8	1.427(5)	N5-C1	1.385(2)	N5-C1	1.383(5)	N5-C1	1.3748(19)
O2-C7	1.4405(16)	O6-N6	1.232(4)	N5-C5	1.315(2)	N5-C5	1.309(5)	N5-C5	1.310(2)
O1-C4	1.2188(16)	N3-C1	1.319(5)	N3-C4	1.345(2)	N3-C4	1.363(5)	N3-C3	1.329(2)
O3-C4	1.4357(17)	N3-C2	1.341(5)	N3-C3	1.326(2)	N3-C3	1.345(5)	N3-C3	1.329(2)
N5-C3	1.3832(17)	N1-C4	1.395(5)	N4-C4	1.389(2)	N4-C4	1.360(5)	N4-C4	1.3795(19)
N5-C5	1.3154(17)	N1-C1	1.382(5)	N4-C5	549.43(7)	N4-C5	1.373(5)	N4-C5	1.343(2)
N3-C2	1.3511(17)	N2-C1	1.325(5)	N4-C6	1.470(2)	N4-C6	1.452(4)	N4-C6	1.469(2)
N3-C1	1.3271(17)	N5-C3	1.386(5)	N2-C3	1.343(2)	N2-C3	1.323(5)	N2-C3	1.390(2)
N4-C2	1.3830(17)	N5-C5	1.316(5)	N1-C3	1.380(2)	N1-C3	1.360(4)	N1-C3	1.318(2)
N4-C5	1.3444(17)	N4-C2	1.387(4)	N1-C2	1.398(2)	N1-C2	1.3396(5)	N1-C4	1.3358(19)
N4-C6	1.4705(16)	N4-C6	1.468(4)	C4-C1	1.378(2)	C4-C1	1.374(5)	C4-C1	1.374(2)
N1-C4	1.4010(17)	N4-C5	1.351(5)	C1-C2	1.428(2)	C1-C2	1.429(5)	C1-C2	1.421(2)
N1-C1	1.3728(17)	C4-C3	1.423(5)	C7-C8	1.508(2)	C7-C8	1.509(6)	C7-C8	1.493(3)
N2-C1	1.3363(18)	C3-C2	1.378(5)						
C4-C3	1.4268(18)	C7-C8	1.486(6)						
C3-C2	1.3740(18)								
C7-C8	1.500(2)								

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela A2 – Ligações de Hidrogênio para os Sais de ACV

	HAcv·HSO₄		HAcv·NO₃		HAcv·Cl		HAcv·BrC		HAcv·BrP
D H A	D(D-A) (Å)	D H A	D(D-A) (Å)	D H A	D(D-A) (Å)	D H A	D(D-A) (Å)	D H A	D(D-A) (Å)
O3 H3 O6	2.7907(14)	O3 H3 O4	2.734(4)	O3 H3 O6	2.7907(14)	N1 H1 N5 ¹	2.759(4)	O3 H7 Br1	3.2282(13)
O5 H5B O7	2.5892(13)	N1 H1 O3	2.752(4)	O5 H5B O7	2.5892(13)	N3 H3A O3 ²	2.707(4)	N3 H11A O2	3.176(2)
N5 H5 O3	2.7191(15)	N2 H2A O1	2.943(4)	N5 H5 O3	2.7191(15)			N3 H11B Br1	3.5671(16)
N1 H1 O4	2.8068(14)	N2 H2B O5	2.895(4)	N1 H1 O4	2.8068(14)			N2 H10 Br1	3.2463(14)
N2 H2A N3	3.1112(16)	N5 H5 O5	2.724(4)	N2 H2A N3	3.1112(16)			N5 H14 O3	2.6860(18)
N2 H2B O5	3.0860(15)			N2 H2B O5	3.0860(15)				

Fonte: Elaborada pelo autor