

Cristalização e Caracterização Estrutural por Difração de Raios X do composto β -ciclodextrina com um agonista do receptor D2 da dopamina

Rosane de Paula CASTRO, José Ricardo SABINO, Carlos Alberto Mansour FRAGA, Eliezer Jesus BARREIRO, Marcos Antônio RIBEIRO, Carlos Basílio PINHEIRO

Instituto de Física – Universidade Federal de Goiás

rosane.fisica@gmail.com

palavras-chave: cristalografia de raios X, compostos orgânicos, β -ciclodextrina

INTRODUÇÃO

A grande importância da Cristalografia Estrutural reside no fato de que é a única técnica que nos fornece com precisão atômica a estrutura tridimensional de uma molécula e, tendo esses resultados, podemos obter uma série de informações a respeito do composto em questão, como por exemplo, propriedades físicas e químicas.

O principal problema na resolução das estruturas é que os dados disponíveis para a análise são somente as intensidades do espectro da difração de raios X pelo cristal e, destes valores, obtemos apenas os módulos dos Fatores de Estrutura. Isso é um fator limitante para a resolução de estruturas moleculares porque impossibilita o cálculo da função de densidade eletrônica por Séries de Fourier com a ausência das fases, que são perdidas no processo de medida. Esse problema é conhecido como *O Problema das Fases* na Cristalografia. Um dos métodos mais utilizados para se resolver esse problema é o chamado Métodos Diretos que, devido a sua robustez, em termos computacionais, e eficácia, é o método correntemente utilizado para pequenas moléculas.

Outro ponto importante é a crescente demanda no desenvolvimento e melhoria de fármacos. Nesse aspecto, a cristalografia desempenha um papel fundamental na caracterização desses materiais. Nesse sentido, foram propostas, até o presente momento, no projeto de mestrado, a cristalização e caracterização por difração de raios X por monocristal de um fármaco, agonista do receptor de dopamina, encapsulado em uma molécula de β -ciclodextrina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os raios X [1], descobertos em 1895 pelo físico alemão Wilhelm Conrad Röntgen, são produzidos quando um feixe de raios catódicos (elétrons) com alta energia é desacelerado pela colisão com um alvo metálico. Elétrons são ejetados por um filamento de tungstênio aquecido e acelerados em direção ao alvo metálico dentro de um tubo evacuado. A radiação liberada pelo alvo consiste de uma mistura de um espectro contínuo e de diferentes linhas intensas de comprimentos de onda bem definidos que dependem do material do alvo metálico, variando de 0,5 a 3,0 Å, no intervalo de interesse da cristalografia estrutural, visto que tais comprimentos são semelhantes às distâncias interatômicas que são analisadas.

As propriedades da difração e da interferência que decorrem do espalhamento dos raios X por monocristais são utilizadas para se obter informações sobre a estrutura dos sólidos visto que a simetria de um padrão de difração está relacionada à simetria da estrutura que o produziu, permitindo assim, determinar a forma do objeto que gerou tal padrão e, a partir das intensidades das ondas difratadas se obtém a natureza do objeto.

A onda total espalhada por um pequeno volume em uma posição r terá uma amplitude proporcional à densidade eletrônica e defasada por um termo de fase. Para se obter a expressão para o espalhamento de um átomo é necessário realizar o somatório sobre toda a distribuição espacial de elétrons atômicos (nuvem eletrônica) [2]. Assim, podemos escrever a expressão para o fator de espalhamento atômico f como a integral:

$$f(\vec{S}) = \int_V \rho(\vec{r}) \exp(2\pi i \vec{r} \cdot \vec{S}) dv \quad (1)$$

O espalhamento total da cela unitária pode ser escrito como o somatório sobre as contribuições de todos os átomos dentro da cela unitária. Esta grandeza é chamada de Fator de Estrutura que é uma função da distribuição da densidade eletrônica na cela unitária, dado por:

$$F_{hkl} = \sum_j f_j \exp(2\pi i (hx_j + ky_j + lz_j)) = |F_{hkl}| \exp i\alpha_{hkl} \quad (2)$$

onde f_j é o fator de espalhamento atômico para o j -ésimo átomo na cela unitária, que tem coordenadas x_j, y_j, z_j e α_{hkl} é a fase do fator de estrutura $F(hkl)$. Os inteiros (hkl) são os índices de Miller para a reflexão ocorrendo em uma dada direção.

Como as equações 1 e 2 sugerem, a estrutura (eletrônica) cristalina e seu padrão de difração (densidade eletrônica) são relacionados entre si por uma Transformada de Fourier. O padrão de difração é a transformada de Fourier da densidade eletrônica da estrutura.

$$F_{hkl} = \sum_j \rho \exp(2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)) \quad (3)$$

$$\rho_{xyz} = \frac{1}{V} \sum_{hkl} |F_{hkl}| \exp(i\alpha_{hkl}) \exp(-2\pi i(hx + ky + lz)) \quad (4)$$

A equação 2 pode ser utilizada para calcular o padrão de difração esperado para a estrutura modelo e, então, ser usado durante o refinamento da estrutura cristalina. Esses valores encontrados são chamados de Fatores de Estrutura Calculados, $F_c(hkl)$. Essa equação descreve, matematicamente, a amplitude observada quando os raios X são difratados por um cristal, durante a coleta de dados.

Para a realização desse projeto utilizamos 4 mg do composto β -ciclodextrina, $C_{42}H_{35}O_{35}$, com um agonista do receptor D2 da dopamina, $C_{20}H_{19}N_4Cl$, derivado de hidroxilato N-fenilpiperazina, que foi fornecido pelo professor Dr. Ricardo Menegatti da Faculdade de Farmácia da UFG. A coleta de dados foi realizada no Laboratório de Cristalografia (LabCri) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em um Difratorômetro Oxford Gemini.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como uma das propostas do projeto de mestrado, trabalhamos até o presente momento na cristalização, coleta de dados, determinação e modelagem da estrutura do tipo hóspede-hospedeiro da β -ciclodextrina, $C_{42}H_{35}O_{35}$, com um agonista do receptor D2 da dopamina, $C_{20}H_{19}N_4Cl$, derivado de hidroxilato N-fenilpiperazina.

β -ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos consistindo de sete unidades de D-glucose ligadas na conformação mais estável, do tipo chair. A aplicação farmacêutica mais comum das ciclodextrina é o melhoramento de solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de moléculas de fármacos. O uso prático da β -ciclodextrina é interessante principalmente devido ao fato de sua cavidade ser um espaço finito, ou seja, uma vez que esse espaço tenha sido ocupado por uma molécula hóspede, outras moléculas são excluídas de ocupar esse espaço ao mesmo tempo. Isso evita interações e reações com outras moléculas.

Os monocristais foram obtidos pelo método de evaporação lenta usando água deionizada como solvente à temperatura ambiente. Os dados de difração foram coletados no Laboratório de Cristalografia (LabCri) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em um difratômetro Gemini usando radiação de Cobre à temperatura de 120 K e até a resolução de 0.9 Å. No pré-experimento, que é o procedimento realizado com o objetivo de determinar a cela unitária e a estratégia de coleta, foi verificado que seria necessário um tempo de coleta de quatro dias para se alcançar resolução de 0.8 Å. Esse tempo de coleta foi impraticável na ocasião e, por essa razão, outra estratégia de coleta foi estabelecida, dessa vez com duração de 32 horas, mas com resolução menor, de 0.9 Å.

A cela unitária é do sistema monoclinico com parâmetros de cela: $a = 18.6735(10)$ Å, $b = 24.4456(12)$ Å, $c = 15.5542(9)$ Å e $\beta = 110.399(6)^\circ$, grupo de espaço C2/m. A estrutura da β -ciclodextrina foi determinada pelo método charge flipping mas a densidade de carga do composto hóspede teve sua determinação afetada devido a baixa resolução dos dados, o que comprometeu a resolução atômica e a possibilidade de uma solução ab initio.

A estrutura molecular e cristalográfica do composto hóspede havia sido determinada separadamente e as coordenadas obtidas foram usadas como modelo para o refinamento da estrutura hóspede-hospedeiro usando SHELXL [3], uma vez que uma densidade eletrônica razoável foi observada no interior da cavidade da β -ciclodextrina

Na modelagem, as coordenadas do fármaco foram ajustadas à densidade eletrônica no interior da cavidade da β -ciclodextrina com base no mapa de densidade eletrônica, no qual foi possível verificar mais de uma orientação para o fármaco, o que indica desordem. Além disso, nenhuma ligação de hidrogênio foi observada entre a β -ciclodextrina e o fármaco. A interação é mediada basicamente, por interações eletrostáticas devido ao fato de o fármaco apresentar protonação. O empacotamento é mediado por interações de hidrogênio do tipo C-H...O e O-H...O entre β -ciclodextrinas. Com a modelagem do fármaco, o fator wR2 caiu de 0.54 para 0.41. Como o refinamento ainda não convergiu, a proposta é que os dados sejam recoletados até uma resolução maior, a fim de visualizar com mais precisão a densidade eletrônica referente ao fármaco.

Na figura 1 temos a representação do fármaco isolado e, na figura 2, a representação da modelagem do fármaco com a β -ciclodextrina.

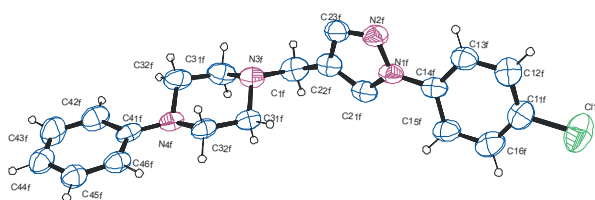


Figura 1 – Representação ORTEP do composto hóspede

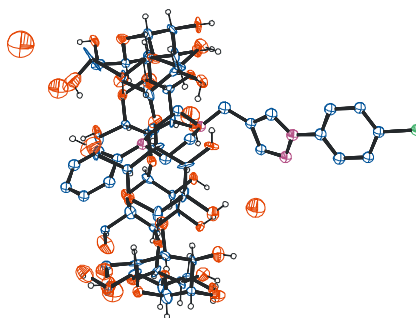


Figura 2 – Representação Ortep do sistema β -ciclodextrina + fármaco

CONCLUSÕES

Como a coleta de dados do composto β -ciclodextrina, $C_{42}H_{35}O_{35}$, com o agonista do receptor D2 da dopamina, $C_{20}H_{19}N_4Cl$, foi realizada em baixa resolução, visto que uma coleta em alta resolução demandaria mais tempo e, na ocasião da coleta, o tempo de reserva de difratômetro na UFMG era limitado, iremos recoletar os dados, agora com a melhor resolução possível e resolver a densidade eletrônica do fármaco.

Além disso, nesse meio tempo está sendo feito um aperfeiçoamento no trabalho prático de coleta dados com o difratômetro CAD4, já que o Grupo de Cristalografia trabalha em parceria com outros departamentos da UFG, e de outras universidades caracterizando amostras recebidas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] STOUT, G.H. & JENSEN, L.H. **X-Ray Structure Determination: A Practical Guide**. New York: Macmillan Publishing Company, 1968.
- [2] WOOLFSON, M.M. **An Introduction to X-Ray Crystallography**. London: Cambridge University Press, 1970.
- [3] SHELDRICK, G. M. **SHELXS-97 – Program for the Solution of Crystal Structures**. University of Göttingen. Germany, 1990.