

Recristalização do inositol pelo método por saturação de vapor com diferentes solventes: Estudo térmico, cristalográfico e morfológico

R.T. Alarcon¹, B.B.C. Holanda¹, C. Gaglieri¹, M.V. de Almeida², G. Bannach^{1*}

1 Faculdade de Ciências, Departamento de Química, UNESP — Univ. Estadual Paulista, 17033-360 Bauru, São Paulo, Brasil; 2 Universidade Municipal de São Caetano do Sul, USCS, CEP 09521-160, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

*gilbert@fc.unesp.br

Aceito em:05/10/2016 Publicado em:15/06/2017

Resumo: O foco deste trabalho foi formar novos cristais de inositol, usando diferentes solventes pelo método de saturação de vapor e estudar seus respectivos comportamentos térmicos, morfológicos, cristalinos e possíveis formas polimórficas. Para tanto, utilizou-se as técnicas de difração de Raios X pelo método do pó (DRXP) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para verificar a cristalinidade e o hábito cristalino das amostras; além destas, as técnicas Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea (TG-DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram utilizadas para determinação da estabilidade térmica, etapas de degradação, pureza e demais eventos térmicos. Todas as técnicas foram utilizadas para comprovar a ocorrência de não polimorfismo com o método utilizado para as recristalizações do inositol.

Palavras chaves: Inositol, Análise Térmica, Cristalização, Morfologia

Introdução

Atualmente, as técnicas termoanalíticas são especialmente úteis para estudar fenômenos físicos e químicos, tais como a decomposição térmica, estabilidade térmica [1], polimorfismo [2], reações no estado sólido[3], formulações de drogas [4], a pureza [5], cinética de reação [6], liberação de produtos voláteis de decomposição [7] entre outras propriedades.

A cristalização polimórfica é determinada principalmente pelo processo de nucleação em que as diferenças de potencial químico e energia interfacial são fatores predominantes. Por conseguinte, a cinética da cristalização do primeiro cristal, bem como o crescimento do cristal são fenômenos multifásicos que precisam ser levados em consideração [8]. A técnica de cristalização pode alterar propriedades do cristal, tais como hábito,

estrutura cristalina e tamanho do cristal. A extensão destas alterações depende das condições de cristalização, tais como a presença de impurezas, tipo de solvente e velocidade de resfriamento [9-10]. Diferentes formas cristalinas de um determinado medicamento podem apresentar diferentes planos e, portanto, não diferem só em sua superfície específica, mas também em sua energia superficial livre [10].

O inositol (INS) (Figura1) é quimicamente conhecido como ciclohexano-1,2,3,4,5,6-hexol, podendo ser representado por nove formas estereoisoméricas, dentre as quais a forma denominada mio-inositol é a mais amplamente encontrada na natureza [11]. No organismo está presente na forma de um nutriente do complexo de vitamina B necessário em pequenas quantidades para o bom funcionamento, e conseqüentemente se manter saudável. O mio-inositol é encontrado

em feijões, ervilhas, arroz integral, farelo de trigo e nozes. Além disso, está sendo estudado na prevenção do câncer, síndrome do ovário policístico, diabetes e contra a síndrome do desconforto respiratório agudo em crianças com pouca idade [12-17].

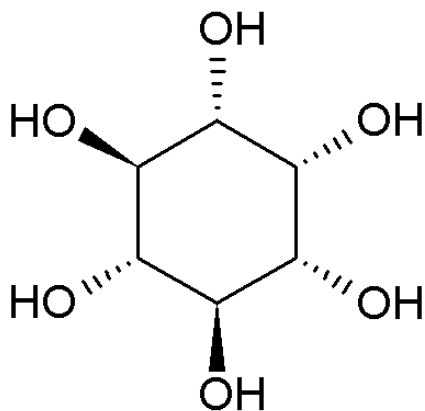


Figura 1: Fórmula estrutural do Mio-inositol

Os difratogramas foram obtidos no difratômetro modelo PC-Max2500 da marca Rikagu, operando nas condições 40 kV 15 mA. As medidas foram realizadas utilizando-se radiação de $\text{Cu } \alpha$ ($\lambda = 1,5403 \text{ \AA}$) com passo de 4° min^{-1} no intervalo (2θ) de 5 a 50° .

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens da microscopia eletrônica de varredura foram obtidas pelo equipamento Zeiss, modelo EVO LS15. As medições de todas as amostras foram feitas com ampliação de 100X em alto vácuo (10^{-3} Pa), para visualização foi aplicado um revestimento de ouro.

Resultados e discussão

Análise Térmica (TG-DTA/DTG e DSC)

As curvas TG-DTA/DTG são exibidas na Figura 2. O INS puro, assim como os recristalizados, não apresentam nenhuma etapa de perda de massa referente à evaporação de água ou solventes, entretanto apresentaram apenas dois eventos de perdas de massa consecutivas. Os compostos obtidos

apresentaram diferentes estabilidades térmicas que podem ser compreendidas de 260°C até 275°C . A primeira etapa de perda de massa é referente a uma pequena evaporação e degradação do inositol, com uma variação de massa total de 86,38%. Para confirmação da evaporação, foram realizadas duas análises complementares (TG-DTA/DTG) que podem ser visualizadas na Figura 3. A Figura 3a mostra a curva TG-DTA/DTG do inositol variando-se a razão de aquecimento, enquanto a Figura 3.b mostra a curva TG-DTA/DTG com uma isoterma em 260°C , conforme descrito anteriormente, a temperatura de início da perda de massa. Ambas as análises mostram que ocorre uma pequena perda de massa (4,5%) associada a evaporação do material, conforme evidenciado pela endoterma na curva DTA (255-305 $^\circ\text{C}$). Posteriormente o restante da perda de massa é associada a degradação oxidativa da matéria orgânica, evidenciada pelo pico exotérmico da curva DTA ($T_p = 369^\circ\text{C}$). Na curva DTA observa-se a fusão das amostras com um pico de fusão em 222°C . A segunda etapa de perda de massa é referente à degradação oxidativa do material carbonáceo, com uma variação de massa média de 13,62%. Não é observado nas análises qualquer material residual.

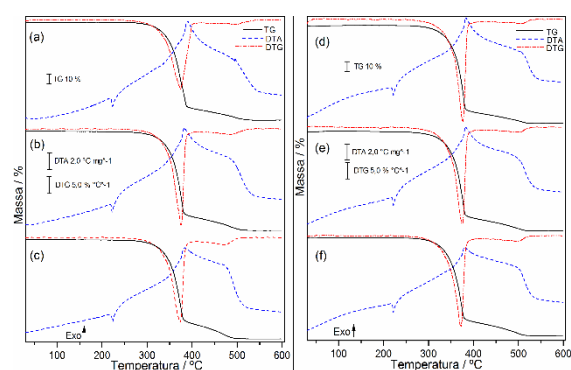


Figura 2: Curvas TG-DTA/DTG do (a) INS puro, recristalizado em (b) acetona, (c) acetoneitrila, (d) Metanol, (e) Etanol e (f) Isopropanol

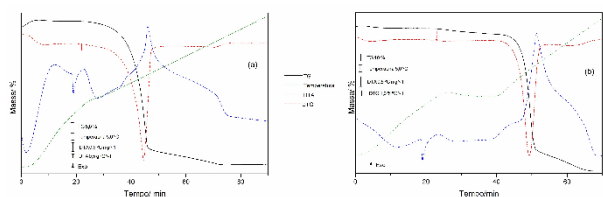


Figura 3: Curvas TG-DTA/DTG da (a) análise com variação de razão de aquecimento de 10,0 °C min⁻¹ para 5,0 °C min⁻¹ (b) análise quase-isotermal.

Todas as etapas de perda de massa e os eventos térmicos relatados no DTA, podem ser vistos detalhadamente na Tabela 1.

As curvas DSC de todas as amostras em estudo podem ser visualizadas na Figura 4.

Tabela 1. Intervalo de temperatura das etapas (θ °C), perda de massa (Δm) e temperatura de pico (T_p) observada em cada curva

Amostra		1º Etapa	2º Etapa
INS PA	θ °C	260-410	410-547
	Δm /%	87,89	12,11
	T_p /°C	389↑	424-557*
INS Acetona	θ °C	271-405	405-526
	Δm /%	86,19	13,81
	T_p /°C	382↑	426-547*
INS Acetonitrila	θ °C	265-408	408-524
	Δm /%	85,44	14,56
	T_p /°C	383 ↑	419-535*
INS Metanol	θ °C	263-405	405-530
	Δm /%	88,26	11,74
	T_p /°C	383↑	423-547*
INS Etanol	θ °C	275-402	402-533
	Δm /%	85,44	14,56
	T_p /°C	382↑	427-539*
INS Isopropanol	θ °C	264-400	400-533
	Δm /%	85,09	14,91
	T_p /°C	380↑	432-543*

*exoterma; ↑ = pico exotérmico.

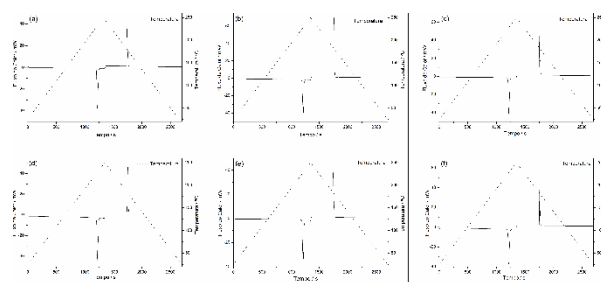


Figura 4: Curvas DSC do (a) INS puro, recristalizado em (b) acetona, (c) acetonitrila, (d) Metanol, (e) Etanol e (f) Isopropanol

Observa-se que todas as amostras apresentaram o mesmo comportamento relacionado à fusão na etapa de aquecimento e a cristalização na etapa de resfriamento. Não mostrado nenhum indicio de polimorfismo durante o processo de aquecimento e resfriamento. A partir da equação de Van't Hoff [19], foi possível calcular a pureza das amostras, utilizando-se a massa molar e a entalpia da fusão. As recristalizações mostraram maior pureza (%) do que o INS comercial. As temperaturas de fusão, cristalização bem como suas entalpias e pureza podem ser vistas detalhadamente na Tabela 2.

Tabela 2. Temperatura de pico da fusão (T_{pf}), entalpia da fusão (ΔH_{fus}), temperatura de pico da cristalização (T_{pc}), entalpia de cristalização (ΔH_{cris}) e pureza das amostras observada em cada curva DSC.

Amostra	T_{pf} /°C	ΔH_{fus} / J g ⁻¹	T_{pc} /°C	ΔH_{cris} / J g ⁻¹	Pureza/%
INS PA	226,63	277,30	186,85	209,55	99,87
INS Acetona	226,20	279,12	184,78	209,44	99,96
INS Acetonitrila	226,09	291,74	184,69	218,34	99,98
INS Metanol	226,09	280,50	184,39	212,28	99,96
INS Etanol	226,29	269,83	185,64	202,72	99,95
INS Isopropanol	225,97	277,02	184,81	207,66	99,96

Difração de Raio X pelo método do pó e Microscopia Eletrônica de Varredura (DRX e MEV)

Os difratogramas de raios X pelo método do pó são mostrados na Figura 5.

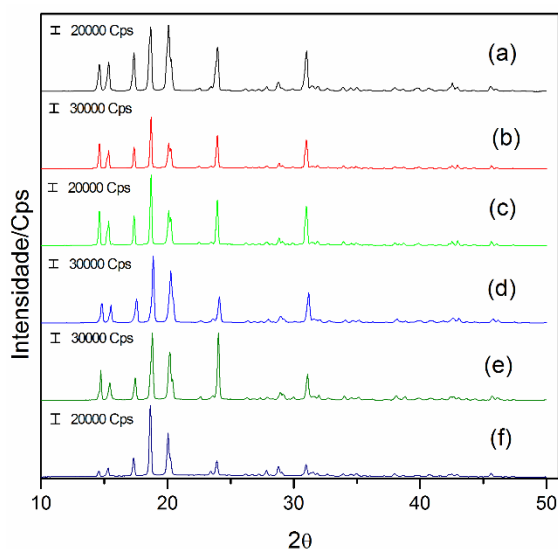


Figura 5: Difratogramas de raios X (a) INS puro, recrystalizado em (b) acetona, (c) acetonitrila, (d) metanol, (e) etanol e (f) isopropanol.

Observa-se que não houve deslocamento na posição dos picos, ocorrendo praticamente a sobreposição dos mesmos. A partir disso, e também pelos pontos de fusão encontrados pelas curvas DSC, pode-se afirmar que a recrystalização do inositol, sob as condições adotadas, não gerou polimorfos. Associando-se esta informação às imagens obtidas pelo MEV, Figura 6, pode afirmar que ocorreu a alteração do hábito cristalino de algumas amostras, como reportado na literatura a variação de solvente na recrystalização podem favorecer o crescimento do cristal em diferentes direções devido a interação superfície solução [20]. Os cristais obtidos utilizando-se acetona (Figura 6.b) apresentaram o mesmo hábito dos cristais do inositol em sua forma comercial (Figura 6.a). Já as amostras recrystalizadas em acetonitrila e metanol, Figuras 6.c e 6.d respectivamente, apresentaram hábitos diferentes entre si e das amostras anteriores. Os cristais obtidos em etanol e isopropanol resultaram em hábitos

parecidos entre si, mas também diferente dos resultados anteriores. Logo a utilização de seis solventes resultou na formação de quatro diferentes hábitos cristalinos.

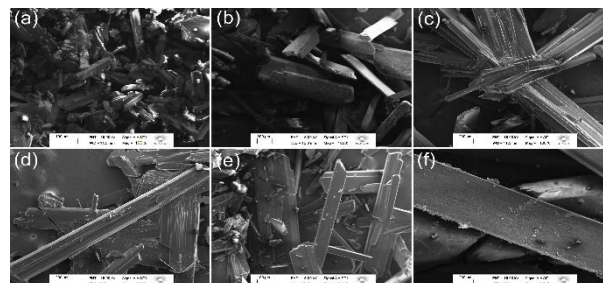


Figura 6: Imagens de MEV com ampliação de 100x (a) INS puro, recrystalizado em (b) acetona, (c) acetonitrila, (d) Metanol, (e) Etanol e (f) Isopropanol

Conclusão

método de recrystalização por saturação de vapor de solvente foi eficiente para a formação dos cristais de inositol. A partir do DSC foi evidenciado que os cristais formados obtiveram um grau de pureza maior do que o inositol comercial.

Todas as amostras exibiram o comportamento térmico semelhante e estabilidade térmica próximas conforme evidenciadas nas curvas TG-DTA/DTG. As curvas DSC evidenciam que todas as amostras têm a mesma temperatura de fusão, assim não mostram indício de polimorfismo, o que é corroborado com os difratogramas de Raio X que são semelhantes. Entretanto pelas imagens do MEV são evidenciadas geometrias diferentes entre os cristais, o que mostra apenas mudança no hábito cristalino, devido ao ambiente químico.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a CAPES (proc. 024/2012 Pro-equipamentos), FAPESP (processos: 2012/21450-1 e 2013/09022-7) pelo suporte financeiro e a POSMAT/ UNESP.

Referências

- [1] Perpétuo, G.L., Gálico, D.A., Fugita, R.A., Castro, R.A.E., Eusébio, M.E.S., Treu-Filho, O., Silva, A.C.M., Bannach, G.

- (2013). Thermal behavior of some antihistamines. *Journal Thermal Analysis Calorimetry*, 111,2019–2028.
- [2]Giron, D. (1995). Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates. *Thermochimica Acta*, 248,1–59.
- [3]Neto, H.S., Novak, C., Matos, J.R. (2009). Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. *Journal Thermal Analysis Calorimetry*,97,367–374
- [4]Miltyk, W., Antonowicz, E., Komsta, L. (2010). Recognition of tablet content bychemometric processing of differential scanning calorimetry curves—an acetaminophen example. *Thermochimica Acta*.508, 146–149.
- [5]Giron, D., Monnier, S., Mutz, M., Piechon, P., Buser, T., Stowasser, F., Schulze, K., Bellus, M. (2007). Comparison of quantitative methods for analysis of polyphasic pharmaceuticals. *Journal Thermal Analysis Calorimetry*, 89,729–743.
- [6]Tita, B., Marian, E., Fulias, A., Jurca, T., Tita, D. (2013). Thermal stability of piroxicam. Part2. Kinetic study of the active substance under isothermal conditions. *Journal Thermal Analysis Calorimetry*, 112,367-374.
- [7]Guerra, R.B., Gálico, D.A., Holanda, B.B.C., Bannach G. (2016). Solid-state thermal and spectroscopic studies of the anti-inflammatory drug sulindac using UV–Vis, MIR, NIR, DSC, simultaneous TG–DSC, and the coupled techniques TG-EGA-MIR and DSC–optical microscopy. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 123(3), 2523-2530.
- [8] Giron, D. (2002). Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. *Journal of thermal analysis and Calorimetry*, 68(2), 335-357.
- [9] Huttenrauch, R. (1983). Modification of starting materials to improve tableting properties. *Pharmazeutische industrie*, 45(4), 435-440.
- [10] Garekani, H.A., Sadeghi, .F, Badiee, A., Mostafa, S.A., Rajabi-Siahboomi, A.R. (2001). Crystal habit modifications of ibuprofen and their physicommechanical characteristics. *Drug development and industrial pharmacy*, 27(8), 803-809.
- [11] Dinicola, S., Fabrizi, G., Masiello, M.G., Proietti, S., Palombo, A., Minini, M., Harrath, A.H, Alwasel, S.H., Ricci, G., Catizone, A., Cucina, A., Bizzarri, M. (2016) Inositol induces mesenchymal-epithelial reversion in breast cancer cells through cytoskeleton rearrangement. *Experimental cell research*, 345 (1), 37-50.
- [12]Govindarajan, C., Pitchaipillai, R., Shanmugasundaram, B., Thangam, S., Arokiasamy, J., Pillai, M.S. (2015) Myo-inositol: A review of its use in patients with polycystic ovary syndrome. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(6), 137-155.
- [13] Turan, G.A., Eskicioglu, F., Sivrikoz, O.N., Cengiz, H., Adakan, S., Gur, E.B., Tatar, S., Sahin, N., Yilmaz, O. (2015). Myo-inositol is a promising treatment for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): an animal study. *Gynecologic Endocrinology and Reproductive Medicine*, 292 (5), 163-171.
- [14] Cianci, A., Panella, M., Fichera, M., Falduzzi, C., Bartolo, M., Caruso, S. (2015) D-chiro-Inositol and alpha lipoic acid treatment of metabolic and menses disorders in women with PCOS. *Gynecological Endocrinology*, 31(6), 483-486.
- [15] Ward, R. M., Sweeley, J., LUGO, R. A. (2015). Inositol Analysis by HPLC and its

stability in scavenged sample conditions. *Medicinal Chemistry*, 5, 77-80.

[16] Howlett, A., Ohlsson, A., Plakkal, N. Inositol in preterm infants at risk for or having respiratory distress syndrome (Review). *The Cochrane Collaboration*. John Wiley & Sons, Ltda. 2015.

[17] Wang, M., Wang,Z.P., Gao, L.J., Yang, H., Zhao, T.Zl. (2015). Maternal Consumption of Non-Staple Food in the First Trimester and Risk of Neural Tube Defects in Offspring. *Nutrients*, 7,3067-3077.

[18] Cunha, S. (2008). Métodos de simples de formação de monocristal de substância orgânica para estudo estrutural por difração de Raio X. *Química Nova*, 31(4), 906-909.

[19] Brown, M. E., Gallagher, P. K. *Handbook of thermal analysis and calorimetry: principles and practice*. Elsevier Science B.V. Amsterdam: 2003. v.1.

[20] Stoica, C., Verwer, P., Meeks, H., van Hoof, P.J.C.M., Kaspersen, F.M., Vlig, E. (2004). Understanding the Effect of a Solvent on the crystal habit. *Crystal Growth & Design*, 4(4), 765-768.