

Oxalato de S-Fluoxetina Homoquiral: Uma Análise Estrutural e Teórica Sobre a Resolução Quiral do sal oxalato de RS-Fluoxetina.

Hugo G. Machado^{1*} (PG), Valter Henrique C. Silva¹ (PQ), Ademir, J. Camargo¹ (PQ), Paulo S. Carvalho Jr.² (PQ).

¹Grupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis, Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, 75001-970, Anápolis, Brasil. ²Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 369, 13560-970 - São Carlos, SP, Brazil.
*hugogontijomachado@gmail.com.

A Fluoxetina (FLX) é um fármaco utilizado para tratar diversos distúrbios como ansiedade e depressão. A FLX é comercializada como um sal de cloridrato racêmico, suas formas enantioméricas S e R apresentam efeito semelhantes. No presente estudo, o oxalato de S-FLX foi separado pela cristalização preferencial da molécula com ácido oxálico e sua estrutura foi determinada por difração de raio X. Afim de determinar os motivos que levaram a cristalização preferencial da S-FLX, uma aproximação para o oxalato de R-FLX foi realizada invertendo a configuração da forma S para efeito comparativo dos cálculos teóricos. Os cálculos foram realizados utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com o funcional m062x e o conjunto de base 6-311G(d,p). A estimativa da energia de cristalização não mostrou diferenças significativa para cada enantiômero. Scans rígidos variando os ângulos diedros da FLX (para os enantiômeros em solução) mostraram que a forma S possui uma menor liberdade conformacional do que a forma aproximada R. Estes resultados sugerem diferenças de propriedades entre as formas enantioméricas no momento da formação do cristal com as moléculas em solução. Portanto, outros cálculos estáticos e de dinâmica molecular estão sendo realizados afim de compreender o mecanismo de cristalização dos enantiômeros.

Palavras-chave: Fluoxetina, Resolução Homoquiral, Quiral, DFT.

Introdução

A Fluoxetina (FLX), *N*-metil-3-(4-trifluorometilfenoxi)-3-fenilpropilamina (Figura 1), é um beta bloqueador fármaco antidepressivo que pertence à classe dos inibidores seletivos da receptação da serotonina¹. É usado não apenas para tratar a depressão associada com desordens de humor, mas também no tratamento do distúrbio obsessivo-compulsivo, bulimia nervosa, distúrbio do pânico e distúrbios de ansiedade².

A FLX é comercializada como um sal de cloridrato racêmico no qual seus enantiômeros apresentam atividades biológicas semelhantes. A estrutura da FLX tem um único centro estereoquímico e, devido a esta quiralidade, a molécula existe

em duas formas enantioméricas. A S-FLX tem uma maior duração de ação em relação a R-FLX, devido a maior potência desse metabólito^{3,4}.

Alguns estudos têm evidenciado uma resolução dos enantiômeros da FLX via cromatografia, mas pela primeira vez técnicas de cristalização em sais diastereomericos foram aplicadas para separação destes componentes. No presente estudo, o enantiômero S da FLX foi separado pela cristalização preferencial da molécula com ácido oxálico na mistura racêmica RS-FLX. Os cristais homoquirais de oxalato de S-FLX foram investigados por difração de raios X.

Apesar de sua importância, o mecanismo de reconhecimento quiral da S-FLX não é suficientemente compreendido. O foco deste trabalho é, portanto, compreender os fatores que levam a cristalização preferencial da forma enantiomérica S com ácido oxálico, realizando cálculos teóricos utilizando Dinâmica Molecular e a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) relacionados a resolução quiral da RS-FLX.

Material e Métodos

A estrutura da FLX está expressa na Figura 1. Para compreender os fatores que levam a cristalização preferencial do enantiômero S na mistura racêmica, foi realizada uma aproximação do enantiômero R para efeito de cálculo comparativo entre o enantiômero S cristalizado, e o enantiômero R que ficou em solução. A aproximação foi realizada invertendo a configuração do carbono assimétrico C7 na estrutura da S-FLX obtida na difração de raio X.

Os cálculos teóricos foram realizados no programas GAUSSIAN09 utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com o funcional m062x e o conjunto de base 6-311g(d,p). A diferença entre a energia das moléculas dos enantiômeros no ambiente cristalino e a soma das energias destas moléculas livres em solução foi utilizada como uma estimativa para a energia de cristalização. Além disso, scans rígidos da variação de ângulos diedros das moléculas em solução foram realizados, o perfil de energia identifica a liberdade conformacional de cada enantiômero.

Resultados e Discussão

Foram calculadas as energias do cristal obtido oxalato de S-FLX; da aproximação realizada oxalato de R-FLX (enantiômero que ficou em solução) e das moléculas livres em solução (S-FLX, R-FLX e oxalato). As energias de cristalização estão na Tabela 1. Apenas a geometria dos hidrogênios foi otimizada.

Tabela 1: Parâmetros termodinâmicos de Energias totais e Energias de Cristalização aproximada. Valores em kJ.mol⁻¹.

		E (Energia)	H (Entalpia)	G (En. Gibbs)
S-FLX Oxalato	S-FLX + C ₂ O ₂ H	-3848494.253	-3847833.736	-3848020.212
	Cristal	-3848742.517	-3848092.734	-3848200.282
	Energia de Cristalização	-248.2646545	-258.9979696	-180.0701886
R-FLX Oxalato	R-FLX + C ₂ O ₂ H	-3848440.561	-3847777.931	-3847964.258
	Cristal	-3848688.104	-3848035.874	-3848143.889
	Energia de Cristalização	-247.542642	-257.9424397	-179.6316512

As energias de cristalização expressas na Tabela 1 não mostraram uma diferença significativa entre os enantiômeros, sugerindo um ambiente cristalino semelhante para ambos. Portanto, o mecanismo que atua na preferência pela cristalização da S-FLX ocorre provavelmente no momento na formação do cristal devido às diferenças entre propriedades dos enantiômeros em solução.

Para investigar as relações entre estrutura e propriedade dos cristais de FLX, foram analisadas diferentes estruturas cristalinas obtidas por difração de raio X da S-FLX (Figura 2) depositadas do Banco de Dados de Cristalografia de Cambridge (CCDC), em meio a diferentes solventes como: NO₃⁻, BO₃⁻ e BF₄⁻. As estruturas foram sobrepostas (Figura 2) a partir de seus centros quirais e foram definidos 3 ângulos de torsão: α (*alfa*), β (*beta*) e γ (*gama*) que mais sofreram variação de uma estrutura para outra.

Figura 1: Representação da Estrutura da Fluoxetina.

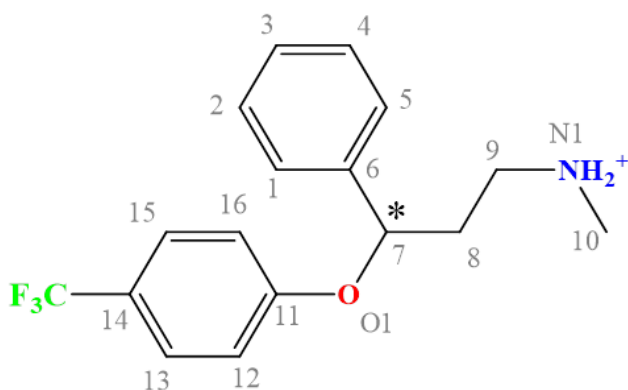
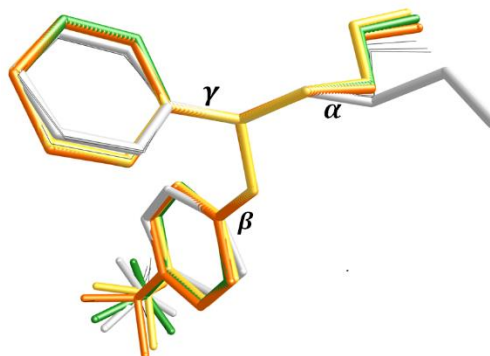


Figura 2: Sobreposição de estruturas de S-FLX cristalizadas em diferentes solventes.

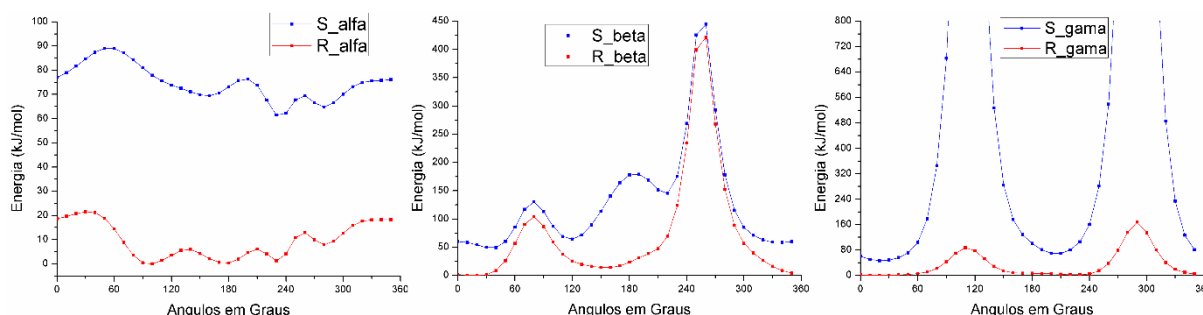


Estes ângulos podem ser identificados na Figura 1 como os ângulos diedrais: α (*alfa*) formado entre os planos dos átomos N1-C9 e C8-C7; β (*beta*) entre os

planos dos átomos C12-C11 e O1-C7; e γ (*gama*) ente o plano dos átomos C1-C6 e C7-O1.

Foi realizado um *scan* rígido da rotação destes 3 ângulos nos enantiômeros (Figura 3). Os ângulos foram rotacionados em 360° e a energia das moléculas foram calculadas a cada 10° utilizando DFT com o nível de teoria m062x/6-311G(d,p), de modo a comparar a liberdade rotacional destes ângulos nas formas S e R.

Figura 3: Scan rígido dos ângulos diedrais α , β e γ dos enantiômeros da FLX. Valores em kJ.mol⁻¹.



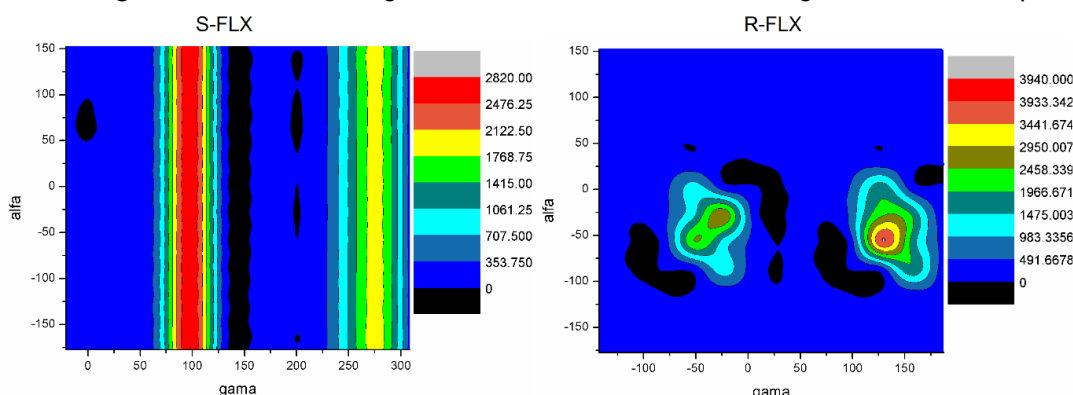
Na análise dos *scans* (Figura 3) o enantiômero S-FLX, representando pela cor azul, apresentou maior energia no início das rotações em relação à sua forma enantiomérica R-FLX, representado pela cor vermelha. A rotação do ângulo α não apresentou diferenças significativas em relação aos enantiômeros; já a rotação do ângulo β apresenta um pico de energia em torno dos 180° apenas para a forma S; e a rotação do ângulo γ atingiu picos acima dos 800 kJ.mol⁻¹ para a forma S, sugerindo, portanto, que a forma S da FLX apresenta uma menor liberdade conformacional em solução do que a forma R.

O ângulo diedral γ foi o que apresentou menor liberdade conformacional na S-FLX. Pensando nisso, foi feito um *scan* tridimensional da rotação deste ângulo em relação aos outros dois ângulos α e β . Nesse *scan* a energia da molécula foi calculada 144 vezes relativas ao giro completo de 360° do ângulo γ e em 12 passos de 30° a cada rotação de 30° dos ângulos α ou β até completar também os 12 passos e o giro completo de 360°. O resultado do *scan* relativo aos ângulos β e γ não apresentou diferença significativa entre os enantiômeros. Os resultados do *scan* relacionando os ângulos α e γ estão representados na Figura 4 na forma de um gráfico de curva de níveis.

Pela análise da Figura 4, o ângulo γ na S-FLX não apresenta liberdade rotacional, uma vez que independente o ângulo α o ângulo γ necessita passar por uma região de alta energia delimitada por uma coluna vermelha em torno dos 100° de torção do ângulo γ . Já na R-FLX (considerando a torção do ângulo α indo de -

210° à 150°), acima dos 25° e abaixo dos -100° de torção do ângulo α , o ângulo γ não sofre resistência à torção.

Figura 4: Scan das energias calculadas rotacionando os ângulos diedrais α e γ .



Considerações Finais

As energias de cristalização não mostraram uma diferença significativa. Os scans dos ângulos diedrais dos enantiômeros mostraram que a forma S, cristalizada neste trabalho, apresenta menor liberdade conformacional em solução em relação a variação principalmente do seu ângulo diedral γ , do que a forma R-FLX aproximada.

Estes resultados sugerem que o mecanismo de preferência pela forma S na cristalização ocorre pela diferença de propriedades entre os enantiômeros em solução, como diferença de solubilidade. Para verificar estas diferenças estão sendo realizados outros tipos de cálculo estáticos e de Dinâmica Molecular para verificar o comportamento dos isômeros em meio ao ambiente em que a S-FLX foi cristalizada.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CNPq, CAPES e UEG.

Referências

1. HIEMKE, C.; HARTTER S.; Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Pharmacology & Therapeutics**, 2000.
2. WONG, D.T., et al., A selective inhibitor of serotonin uptake: Lilly 110140, 3-(p-Trifluoromethylphenoxy)-n-methyl-3-phenylpropylamine. **Life Sciences**, 1974.
3. WONG, D. T.; BYMASTER, F. P.; REID, L. R.; MAYLE, D. A.; KRUSHINSKI, H.; ROBERTSON, D. W. Norfluoxetine Enantiomers as Inhibitors of Serotonin Uptake in Rat Brain. **Neuropsychopharmacology**, 1993.
4. FULLER, R.W.; SNODDY H.D. Fluoxetine enantiomers as antagonists of p-chloroamphetamine effects in rats. **Pharmacol Biochem Behav**, 1986.