



OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE, ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E UTILIZAÇÃO EM UM MODELO EXPERIMENTAL DO CLORIDRATO DE GLUCOSAMINA



LEITE, Ana Christiny Cruz; SILVEIRA, Isabelle Araújo; MATOS, Vânia Cordeiro; MATOS, José Everardo Xavier; MONTEIRO-MOREIRA, Ana Cristina O. & MAFEZOLI, Jair.

*Curso de Ciências Farmacêuticas – Centro de Ciências da Saúde – Universidade de Fortaleza
LEITE, Ana Christiny Cruz, anachristiny@bol.com.br; Rua Alberto Torres nº 151*

Synthesis , analytical characterization and use of an experimental glucosamine and glucosamine hydrochloride model : preliminary pharmacological essays

ABSTRACT

Glucosamine Hydrochloride is a salt (GlcN.HCl) prepared by chitin acidic hydrolysis . Therapeutic action of glucosamine derivatives on osteoarthritis has been studied extensively . In this work glucosamine hydrochloride has been prepared by acidic hydrolysis using concentrated hydrochloric acid under reflux , followed by precipitation and recrystallization . Crystals were characterized by infrared and proton and Carbon-13 nuclear magnetic resonance. Pharmacological essays has been performed by induction of osteoarthritis in Wistar rats (Ratus norvegicus) by intravenous Zymosan , followed by treatment with a test drug , observing the evolution of clinical data .

1.INTRODUÇÃO

O Cloridrato de Glucosamina (2-Amino-2-Deoxi-D-Glicose) consiste num pó branco cristalino, sabor levemente doce, facilmente solúvel em água e menos solúvel em etanol (PADETEC, 2002).

A Glucosamina é uma substância natural sintetizada no organismo a partir de glicose e do aminoácido glutamina. E, ao mesmo tempo, é precursora e estimulante da síntese dos proteoglicanos. A disponibilidade de glucosamina é o elemento chave e a matéria-prima para a síntese do glucosamino glicanos (CAG) e dos proteoglicanos. Se a disponibilidade de glucosamina é suficiente, então a síntese dos proteoglicanos é estabelecida.

Existem três formas básicas de glucosamina comercialmente disponíveis: N-Acetil Glucosamina, Hidroclorato de Glucosamina e Sulfato de Glucosamina.

Embora muitos estudos clínicos tenham usado com êxito o Sulfato de glucosamina, testes em animais e todos os estudos de cultura de cartilagem indicam que o Cloridrato de glucosamina é a melhor forma existente, por aumentar a produção de cartilagem (McCarty, 1994).

O produto natural Cloridrato de glucosamina não é analgésicos nem tem qualquer

semelhança com a Aspirina, e outros DNEAI's (drogas antiinflamatórias não esteroideais) , nem corticosteróides. Usado continuamente, observa-se que alivia a dor, repara e reconstrói os tecidos danificados, e reduz a necessidade do uso de drogas antiinflamatórias não-esteroideais (KR Stone,2002). Num estudo comparativo entre a glucosamina e o Ibuprofeno, o grupo que tomou glucosamina durante 8 semanas sentiu menos dores e mais mobilidade do que o grupo que tomou Ibuprofeno. Todavia, estes efeitos permanecem por até um mês após a suspensão da suplementação. Isso já não ocorre com medicamentos usados para o alívio da dor (Lopez, 1982 e Drovanti, 1980).

Por ser suplemento natural profilático, pode evitar, e até mesmo suspender a degeneração das articulações. O início da suplementação logo nos primeiros sinais de dano ou degeneração é determinante. Se a doença progredir até não existirem mais restos de cartilagem, torna-se impossível o seu reparo.

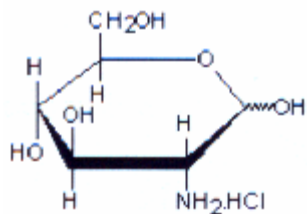
A atividade antiinflamatória da glucosamina parece estar relacionada a um mecanismo diferente das drogas não-esteroideais, as quais agem principalmente através da inibição da cicloxigenase. A glucosamina não é um inibidor da cicloxigenase e desta maneira seu efeito é independente das prostaglandinas. A glucosamina estimula a biossíntese dos

proteoglicanos: os proteoglicanos recém-sintetizados podem estabilizar as membranas celulares, resultando num efeito antiinflamatório. Também reduz a formação de radicais superóxido pelos macrófagos e inibe as enzimas lisossomais (PADETEC,2002).

A osteoartrite, caracterizada pela degeneração da articulação, perda de cartilagem e alterações no osso subcondral, afeta atualmente mais de 40 milhões de brasileiros. Nos Estados Unidos são mais de 50 milhões. Há uma incidência de 35% nos joelhos, que aparece a partir dos 30 anos, aumentando dramaticamente com a idade e afetando 80% das pessoas acima de 50 anos. Até agora, o tratamento adotado é aliviar a dor tanto o quanto possível, enquanto os tecidos continuam se deteriorando (Pizzorno, 1995).

Devido ao desgaste normal, os tecidos sofrem constantes estragos, podendo ser restabelecidos ou restaurados. Quando envelhecemos, doenças ou lesões criam condições inferiores às ideais, com isso os tecidos se estragam mais rapidamente do que podem ser regenerados. Isto também aumenta o desgaste da cartilagem matriz de uma articulação com osteoartrite do que numa articulação normal. Quando o aumento da matriz degenerada por enzimas condrócitas excede o aumento da nova matriz sintetizada, as cartilagens se degeneram naturalmente (condrócitos em excesso criam substâncias úteis à reposição da cartilagem como também criam enzimas que destroem seus componentes). Se esse processo continuar, a destruição da cartilagem será acompanhada pelo endurecimento e formação de esporões ósseos (osteófitos) nas extremidades das articulações. O resultado é dor, deformidade e movimento limitado na articulação (Goodheart,1954)

Fig.1.Fórmula do Cloridrato de glucosamina



A comprovação da eficácia e segurança do uso desse produto natural, o cloridrato de glucosamina, tem uma importância sócio-econômico muito relevante no contexto da saúde mundial, visto que os medicamentos usados para as patologias relacionadas à degeneração óssea

tem custo elevado para o governo e população que não usa o sistema de saúde pública, não agem na causa e só tratam a sintomatologia. Esse trabalho tenta atender as necessidades da população aliada à facilidade de obtenção de matéria-prima que a região do Ceará oferece.

O Estado do Ceará em função do intenso consumo de caranguejos, gera um volume considerável de resíduos não aproveitados, acarretando problemas relacionados ao meio ambiente, por se tratar de material de difícil degradação.

Inúmeras são as formas de aproveitamento destes resíduos, destacando-se como a mais promissora a obtenção da quitina e seus derivados.

A quitina é um polissacarídeo natural abundante, que faz parte da constituição das carapaças de crustáceos (caranguejos, camarões, lagostas). A quitosana é um derivado da quitina pela conversão de grupos acetila por grupos amino.

Este grupo de trabalho do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFOR já domina a extração, isolamento e purificação da quitina e a síntese da quitosana, partindo nesse momento para o estudo da síntese da glucosamina e seus derivados e seu emprego em um modelo farmacológico de artrite experimental.

2.OBJETIVOS

2.1. GERAL

Realizar estudos pré-clínicos que comprovem a eficácia terapêutica da suplementação com o Cloridrato de glucosamina, produto obtido a partir de carapaças de caranguejos, no tratamento e profilaxia da osteoartrite e com isso estabelecer um modelo experimental que forneça a dose ideal de utilização desta substância no tratamento dessa patologia em ratos de laboratório.

2.2. ESPECÍFICOS

- Contribuir para a reciclagem e utilização de resíduo urbano específico: carapaças de caranguejos;
- Estabelecer procedimentos de extração e isolamento de quitina de carapaças de caranguejos;
- Desenvolver metodologia e técnica de síntese de glucosamina e cloridrato de glucosamina a partir da quitina para utilização na terapêutica da osteoartrite;

- Caracterizar os produtos obtidos através de análises químicas, físico-químicas e espectrofotométricas;
- Disponibilizar os produtos obtidos para avaliação como insumo farmacêutico em um modelo experimental com ratos acometidos de osteoartrite;
- Verificar a atividade antiinflamatória do cloridrato de glucosamina em um modelo animal de artrite induzida pelo zymosan;
- Observar a atividade terapêutica do cloridrato de glucosamina na redução da lesão causada pela osteoartrite ou mesmo remodelação do osso e proteção das estruturas ósseas contra efeitos de indução química;
- Elaborar um esquema de tratamento para a osteoartrite e doenças degenerativas ósseas em geral, mais eficaz e menos dispendioso para a sociedade, e que seja bem aceito pela comunidade médico-científica.

3.METODOLOGIA

I)Coleta de amostras: coletou-se carapaças de caranguejos junto a processadores destes crustáceos, que foram submetidas à lavagem, secagem, moagem e classificação em tamises(9-16 mesh).

II) Isolamento e purificação da quitina: o processamento das carapaças envolveu duas etapas: (i) desmineralização - tratou-se às carapaças com ácido clorídrico(HCl) 1,5M, usando-se a relação sólido-líquido 1:15, por 2 horas à temperatura ambiente; (ii) desproteínização - às carapaças desmineralizadas adicionou-se hidróxido de sódio (NaOH) 4%, relação sólido-líquido 1:10, a 80°C por 2 horas.

III) Síntese da glucosamina: Efetuou-se a hidrólise ácida da quitina por tratamento sob refluxo com HCL concentrado, a fim de se obter um rendimento máximo de glucosamina, depois de se determinar às condições ótimas para realização de tal reação. Recuperou-se a glucosamina pelas reações de precipitação e recristalização; em seguida o produto foi caracterizado, por análises químicas, determinação da solubilidade em água e solventes orgânicos e espectros de absorção na região do infravermelho. A glucosamina purificada, então, foi convertida em cloridrato de glucosamina.

Em face do sucesso na obtenção de glucosamina, convertida em cloridrato de glucosamina de glucosamina, com as análises de controle de qualidade realizadas, comprovou-se a pureza e qualidade do material obtido, passou-se para a fase seguinte do projeto que consiste na realização

dos testes farmacológicos.

IV) Os ensaios farmacológicos pré-clínicos estão sendo realizados em ratos Wistar (*Ratus norvegicus*) machos e fêmeas. A Artrite é induzida nesses animais na articulação do joelho direito através da administração de Zymosan 1mg via mitra articular diluído em 50mL de solução salina. O grupo controle recebe apenas solução salina. Os grupos testes 1 e 2 recebem glucosamina e cloridrato de glucosamina, enquanto o grupo 3 recebe Ibuprofeno (Medicamento de Referência- DNEAI's). O grupo 1 será submetido à administração de glucosamina na forma de cloridrato previamente a indução da artrite, o grupo2 receberá a substância teste após a indução da artrite e o grupo3 receberá o Ibuprofeno após a indução da artrite. Observar os resultados.

IV)

5.RESULTADOS

A tabela 1 mostra que dentre os quatro experimentos realizados, sob as condições estabelecidas, foi suficiente apenas 1 hora de tratamento sob refluxo com HCl concentrado para obtermos o maior rendimento de cloridrato de glucosamina. Constatamos que a quitina sofre oxidação e, portanto obtemos menor produção do cloridrato de glucosamina quando aumentamos o tempo de reação

Tabela 1. Síntese da glucosamina

AMOSTRA	TEMPO	TEMPERATURA	S:L	PRODUÇÃO
1	1 h	100°C	1:5	12,1792g
2	2 hs	100°C	1:5	11,1395g
3	3 hs	100°C	1:5	10,2958g
4	4 hs	100°C	1:5	10,2365g

- Através da interpretação da curva termogravimétrica concluímos que a amostra de cloridrato de glucosamina sintetizada é estável até cerca de 200°C, quando se inicia a decomposição, resultando na total volatilização em aproximadamente 650°C.
- A interpretação do espectro de absorção no infravermelho (Figura 1) nos permite a confirmação que a substância em estudo trata-se do cloridrato de glucosamina.

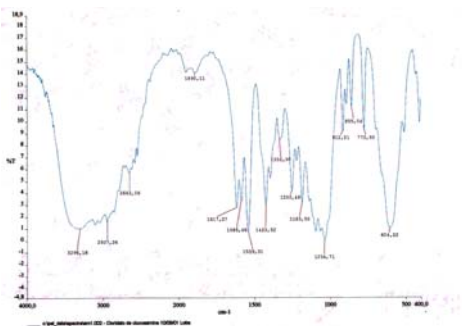


Figura 1. Espectro de absorção na região do infravermelho

6. CONCLUSÃO

A síntese do cloridrato de glucosamina foi realizado com sucesso, sendo estabelecidos os padrões para obtenção de um maior rendimento, mas os ensaios farmacológicos ainda não nos forneceram dados conclusivos que nos permita afirmar que a substância em estudo é efetiva no tratamento da osteoartrite.

7. Referências Bibliográficas

1. Matos, J. E. X., e Bevilaqua, G. S., “Otimização de Processo e Isolamento de Quitina de Carapaças de Caranguejos” , XXXVIII Congresso brasileiro de Química, São Luis – MA, 20-24.09.1998.
2. Pizzorno, J, “ Natural Medicine Approach to Treating Osteoarthritis”, Alt & Comp Ther, Jan/Feb, 1995; 93-95.
3. McCarty, M, “ The Neglect of Glucosamine as a Treatment for Osteoarthritis – A Personal Perspective”, Medical Hypotheses (1994) 42; 323-327.
4. Lopez, V, “ Double- blind clinical evaluation of the relative efficacy of ibuprofen and glucosamine sulfate in the management of osteoarthrosis of the knee in outpatients”, Cur Med Res Opin, 9: 145-149, 1982.
5. Drovanti, A et al., “ Therapeutic activity of oral glucosamine sulfate in osteoarthrosis: A placebo-controlled double-blind investigation”, Clin Ther 3(4): 260-272, 1980.
6. Goodheart, G., “A Presentation of a New Approach to Correction of Disc Lesions”, ACA Journ. Chiro., Dec., 1954, p. 36-37.
7. Sites: www.padetec.com.br
www.glucosamineresourcecenter.com
www.progressivelabs.com