

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE UMA FORMULAÇÃO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA PARA MOLÉCULA ALTAMENTE HIDROSSOLÚVEL

ALEXANDRE MARTINS DE LIMA^{1,2}; ALEXANDRE FERREIRA BILHALVA¹;
CATIANE PRESTES DOS SANTOS¹; RAFAEL DA FONSECA PRIETSCH¹;
RUBENS ALVES PEREIRA¹; MARCIO NUNES CORRÊA^{1,3}

¹ Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Faculdade de Veterinária,
Universidade Federal de Pelotas – UFPEl

² aleeslima@gmail.com; ³ marcio.nunescorrea@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Tecnologias de sistemas de liberação controlada de substâncias resumem-se a formulações farmacêuticas com fornecimento regulado de uma determinada molécula, que tem como objetivo conduzir e propiciar sua liberação por um determinado período numa quantidade específica e contínua (JAIN, 2008). A busca de conhecimentos sobre essas plataformas de liberação vem ganhando espaço considerável em diversas áreas de estudo e no desenvolvimento de novos produtos. Uma dessas áreas é a medicina veterinária, na qual podemos citar as administrações de doses de fármacos que podem ser aprimoradas com a utilização de ferramentas de liberação sustentada.

A grande vantagem dessa plataforma é a manutenção dos níveis plasmáticos terapêuticos no animal, possibilitando intervalos de doses maiores, assim como a redução de efeitos adversos que os sistemas de liberação convencionais podem provocar (FORTUNATO et al. 2007). Além disso, há um menor risco de toxicidade, visto que a liberação contínua e gradativa minimiza reações inflamatórias locais (RODRIGUES, 2012).

As formulações utilizadas constituem-se comumente em polímeros atóxicos e biodegradáveis, que não apresentam necessidade de remoção após o seu uso, visto que os compostos oriundos de sua degradação são prontamente convertidos pelo organismo (WINZENBURG et al. 2004). Pode-se citar como classes desses polímeros os poloxâmeros, os polimetacrilatos e as quitosanas, entre outros que possuem a capacidade de termogeleificação, ou são responsivos a alterações de pH, alterando a viscosidade do gel (CARLFORS et al. 1998; VILLANOVA et al. 2010; LOPES et al. 2009). A formação desses hidrogéis caracteriza-se por redes trimensionais poliméricas, parcial ou totalmente hidrofílicos, que aumentam seu volume quando hidratados. A molécula comumente está distribuída homogeneamente na matriz polimérica, dissolvida ou dispersa, no seu interior ou em sua superfície.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver e avaliar *in vitro* formulações de liberação sustentada, compostas por polímeros hidrofílicos, utilizando uma molécula altamente hidrossolúvel como fármaco modelo.

2. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Inovação Farmacêutica pertencente ao Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), vinculado a Faculdade Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). As formulações foram desenvolvidas utilizando dois polímeros em concentrações diferentes, através do *cold method* (SCHMOLKA, 1972). Os polímeros foram

dispersos em 5 ml de água para injetáveis nas quantidades desejadas, a fim de atingirem as concentrações a serem testadas, e ficaram até completa dissolução. Após esse período a molécula hidrofílica foi dispersa na formulação.

Foram preparadas 9 formulações, sendo que todas elas apresentavam a mesma concentração do polímero "A", tendo variação de 0%, 10% e 15% do polímero "B" e de 0%, 10% e 15% da molécula hidrossolúvel.

Para a análise da temperatura de geleificação das formulações foram feitas alíquotas de 2 ml e alocadas em banho-maria e então realizado o processo de geleificação, que consiste em aumentar gradativamente a temperatura até que seja identificada a formação de um gel na respectiva formulação.

Após esse processo foram realizadas as análises de erosão do gel e liberação da molécula, para isso adicionava-se 15 ml de PBS (tampão fosfato-salino) em cada tubo para mimetizar os fluidos e pH (7,4) das condições fisiológicas. Posteriormente, as amostras foram levadas novamente a um banho-maria com agitação a 37 °C. A cada 24 horas foram realizadas pesagens dos tubos para verificação da erosão do gel, e também coletado todo o meio para análise (espectrometria UV, 254 nm) da liberação da molécula. Para o cálculo da concentração liberada, com base na absorbância gerada no espectrofotômetro, foi cosntruída uma curva de calibração com concentrações conhecidas do fármaco modelo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão expressas todas as temperaturas de geleificação das formulações realizadas.

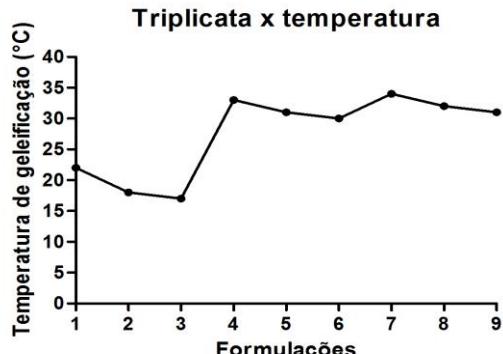


Figura 1: Temperaturas de geleificação das formulações poliméricas preparados contendo diferentes concentrações do fármaco modelo.

As amostras 7 e 4 são duas formulações sem o fármaco modelo hidrossolúvel (0%), demonstrando que na ausência da molécula há uma menor desestabilização da matriz micelar, o que possivelmente explica a diferença de pressão hidrostática que a molécula impõe sobre a matriz polimérica, alterando as características físico-químicas do gel. Segundo FLÓRIO e SOUSA (2011), a filtração é um processo da passagem de moléculas por membranas biológicas, onde substâncias hidrossolúveis atravessam a membrana por canais já existentes. A amostra 8 com 15% de polímero "B" e 10% do fármaco modelo hidrossolúvel apresentou uma temperatura de geleificação de 32°C, mostrando-se promissora ao se aproximar da temperatura desejada. A formulação 3 foi responsável pela menor temperatura de geleificação (17°C), sendo que na sua composição o polímero "B" estava ausente e continha 15% de fármaco modelo hidrossolúvel, isso confirma nossas expectativas em relação ao polímero "B", o qual contribui para aumentar a temperatura de

geleificação nas formulações, porém altera a estrutura micelar do gel, diminuindo o tempo de estabilidade e aumentando a erosão desse.

Na Figura 2 estão expressas as análises de erosão do gel.

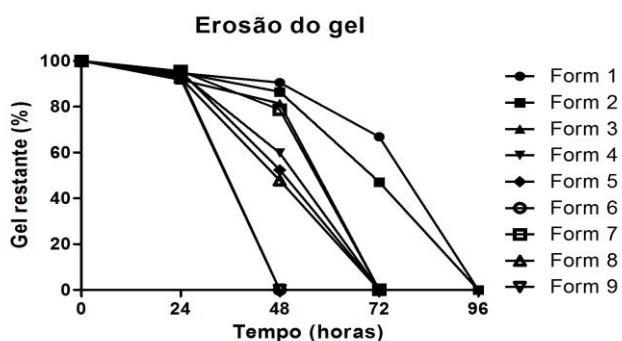


Figura 2: Perfil de erosão dos géis formados pelas matrizes poliméricas, incorporadas com fármaco modelo hidrossolúvel durante um período de 96 horas.

Nas formulações 1 e 2, o gel resistiu a erosão durante 96 horas, sendo que a primeira e a segunda não apresentavam o polímero "B", porém a segunda continha 10% de fármaco hidrossolúvel. A diferença nas curvas das formulações 1 e 2 é resultado da presença do fármaco modelo hidrossolúvel na formulação 2. Segundo FLÓRIO e SOUSA (2011), como foi citado anteriormente, o processo de filtração é caracterizado pela passagem de substâncias hidrossolúveis através de membranas biológicas, isso talvez explique a razão da maior desestruturação do gel na presença da molécula hidrossolúvel, pois devido à alta hidrofilicidade da molécula, ela provavelmente atraia uma maior quantidade de água para a matriz do gel, favorecendo sua erosão.

Na Figura 3 está representada a liberação *in vitro* de todas as formulações, com exceção das amostras sem a molécula hidrossolúvel.

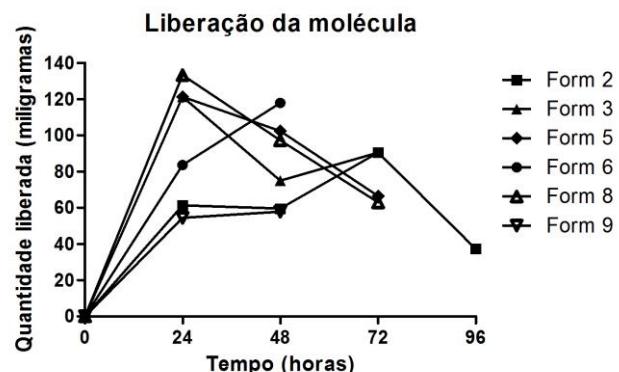


Figura 3: Perfil de liberação da molécula hidrossolúvel contida nas matrizes poliméricas durante o período de 96 horas.

Na amostra 2, houve a liberação por um período de 96 horas sem grandes oscilações, mostrando-se um resultado promissor, visto que esse é o padrão de liberação que se espera de uma plataforma de liberação controlada. A ausência de grandes oscilações possibilita a manutenção de uma dose terapêutica sem riscos de toxicidade e que se mantenha por um determinado período (FRASER et al. 1996). Esse tipo de situação é importante na Medicina Veterinária e ultimamente vem sendo empregada em tratamentos para ectoparasitas, endoparasitas, suportes

minerais e energéticos, assim como tratamentos hormonais de regulação estral (MATSCHKE et al. 2002).

4. CONCLUSÕES

O desenvolvimento e avaliação *in vitro* da plataforma de liberação sustentada, utilizando como fármaco modelo uma molécula altamente hidrossolúvel, mostrou-se satisfatório, visto que foi possível alcançar uma liberação gradativa da molécula por um período relativamente longo, de maneira que a mesma apresentasse uma temperatura de geleificação próxima ao fisiológico de um animal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARLFORS, J.; Edsman, K., Petersson, R., & Jörnving, K. Rheological evaluation of Gelrite® *in situ* gels for ophthalmic use. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 6, n. 2, p. 113-119, 1998.
- FLÓRIO, J. C.; SOUSA, A. B. Farmacocinética. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária, 5ª edição**. GUANABARA KOOGAN, 2011. Cap. 4, p. 27-45.
- FORTUNATO, K. A.; DOILE, M. M.; SCHUMÜCKER, I. C.; SCHUCKO, S. K.; SILVA, M. A. S.; RODRIGUES, P. O. Influência da Complexação com β-ciclodextrina sobre a Liberação do Acetato de Dexametasona a partir de Matrizes Hidrofílicas de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e Polioxetileno (PEO). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n.4, p. 513 - 521, 2007.
- FRASER, C. M.; BERGERON, J. A.; MAYS, A.; AIELLO, S. E. **Manual Merck de Veterinária**. São Paulo: Roca, 1996.
- JAIN, K.K. Drug delivery systems: an overview. Methods in Molecular Biology. **Humana Press**, v. 437, p. 1 - 50, 2008.
- LOPES, L. C.; PIAI, J. F.; FAJARDO, A. R.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Propriedades de hidrogéis constituídos de quitosana e sulfato de condroitina na presença de teofilina intumescidos em diferentes pHs. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS**, Foz do Iguaçu, 2009. Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros – Foz do Iguaçu, PR. p. 1 - 9.
- LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; LA ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n.5, p. 784 - 793, 2007.
- MATSCHKE, C.; ISELE, U.; HOOGEVEST, P. V.; FAHR, A. Sustained-release injectables formed *in situ* and their potential use for veterinary products. **ELSEVIR. Journal of Controlled Release**, v. 85, p. 1 - 15, 2002.
- RODRIGUES, N. O. L. **Estudo da liberação controlada de fármacos por hidrogéis de PVA**. 2012. Monografia. Curso de Engenharia de Materiais, UFRJ.
- SCHMOLKA, I R. Artificial skin I. Preparation and properties of pluronic F-127 gels for treatment of burns. **Journal of biomedical materials research**, v. 6, n. 6, p. 571-582, 1972.
- VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.
- WINZENBURG, G.; SCHIMIDT, C.; FUCHS, S.; KISSEL, T. Biodegradable polymers and their potential use in parenteral veterinary drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1453-1466, 2004.