

## AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DE UMA POTENCIAL FORMULAÇÃO DE HIDROGEL COM PIRAZOL

JEANIFER TEIXEIRA CAMACHO<sup>1</sup>; VICTORIA BORGES VAZ DE LEON<sup>:2</sup>; DIEGO SERRASOL DO AMARAL<sup>2</sup>; JOSÉ MARIO BARICHELLO<sup>2</sup>; CATARINE PETER BELLETTI<sup>2</sup>; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – jeanifertm@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – lahbbio@ufpel.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

Fármacos incorporados em sistemas são promissores para estratégia terapêutica para diversas doenças infecciosas e não infecciosas como, por exemplo, carcinomas, aterosclerose e diabetes devido sua formulação oferecer diversos benefícios como direcionamento específico para células e tecidos, efeito farmacológico prolongado, proteção contra modificações metabólicas, biodisponibilidade e eficiência terapêutica de compostos bioativos aprisionados ou complexados (BARENHOLZ et al., 2012; GIULIANO et al., 2018).

Estudos demonstraram resultados promissores na utilização de hidrogéis como sistema para liberação de vancomicina, antibiótico de amplo espectro, obtendo uma liberação lenta *in vitro* e boa tolerabilidade em ratos após administração da formulação, além disso, uma única dose resultou em alta concentração local do fármaco por 24 horas e atividade antibacteriana em oito dias, demonstrando que a atividade farmacológica da vancomicina não foi afetada pela matriz P-407. (GIULIANO et al., 2018).

Dessa forma, a necessidade de novos sistemas fez com que os géis termorreversíveis tivessem um emprego fundamental como matriz carreadora de fármaco, pois possuem condições ideais como, boa tolerabilidade, biodegradabilidade, liberação controlada e não traumática, solúveis em água e não tóxicos (BEARD et al., 2020). Alguns estudos demonstraram que hidrogéis à base de Poloxamer (P-407) como sistema para liberação de fármacos obtiveram sucesso (GIULIANO et al., 2018). O P-407 é composto por óxido de polietileno (PEO, 70%) e óxido de polipropileno (PPO, 30%) que quando entra em contato com água forma um hidrogel com aplicabilidade biomédica, visto que é um excipiente anfifílico que é reconhecido como seguro para utilização farmacológica (BEARD et al., 2020).

Nesse sentido, compostos heterocíclicos, como, por exemplo, o pirazol e seus derivados, são substâncias promissoras visto que possuem uma grande relevância em diversas áreas, pois apresentam uma gama de aplicabilidade, sendo comumente utilizado no âmbito da química, com destaque para fármacos e produtos agroquímicos. Esses compostos podem ser extraídos da natureza ou sintetizados em laboratório com propriedades estudadas anteriormente e pré-definidas possuindo bioatividades farmacológicas como antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, analgésica e anti-inflamatória (COTTINEAU et al., 2002; LEDNICER et al., 1996).

Nessa mesma perspectiva, sabe-se que os radicais livres são moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados em seus orbitais externos. Possuem função como intermediários em várias reações bioquímicas no organismo, além disso podem estar envolvidos nas respostas rápidas devido sua capacidade reativa. Todavia, essas substâncias quando geradas em excesso pode

ocasionar prejuízo podendo ter relação a uma infinidade de doenças que afetam o nosso organismo. Diante disso, existe grande interesse de novos antioxidantes provenientes de espécies naturais ou sintéticas com a finalidade de regular o equilíbrio entre a formação e a remoção das espécies radiativas, assim, prevenindo os efeitos nocivos dos radicais livres no corpo humano (HOSTETTMANN et al., 2003). Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante de um hidrogel formulado com uma molécula de pirazol utilizando o método do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).

## 2. METODOLOGIA

Para a preparação do hidrogel foi pesada 20% (p/p) de Poloxamer® P-407 e adicionado gradualmente a frio (5-10 °C), em 70% de água destilada em agitação leve. Para garantir a dissolução completa, foi deixado em *overnight* em refrigerador. A formação do hidrogel P-407 foi obtida pelo aumento da temperatura. A formulação foi realizada com uma molécula de pirazol, o 1-Tiocarbamoil-5-(4-chorofenil)-3-fenil-4,5-di-hidro-1pirazol a 1 mmol devido seu potencial efeito antimicrobiano. Na realização da formulação seguiu-se a mesma metodologia do hidrogel utilizando uma proporção de 2:7:1.

Para a avaliação da atividade antioxidante, foi utilizado concentrações de 0,300, 0,250, 0,200, 0,150 e 0,100 mg.mL<sup>-1</sup> da formulação misturando-as com 150 µL de solução metanólica de radical DPPH (0,394 mg.mL<sup>-1</sup>) e 3 mL de metanol. As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 15 min em ambiente escuro e analisadas por Espectroscopia na região do UV-Vis (Bel, modelo LGS53, Piracicaba, Brasil) no comprimento de onda de 517 nm. O controle positivo foi realizado com ácido ascórbico. Um branco analítico também foi testado e o experimento foi realizado em triplicata (n=3). A inibição do radical DPPH em diferentes concentrações das formulações foram medidas pela (**Equação 1**).

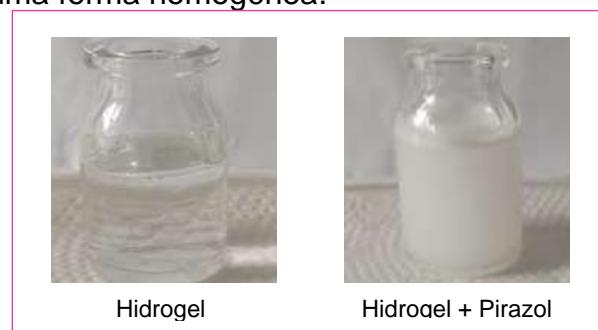
**Equação 1** - Fórmula da inibição do radical DPPH

$$\%Inhibition = \left[ \frac{A_{DPPH} - (A_{Nanoemulsão} - A_{Branco})}{A_{DPPH}} \right] \times 100$$

Fonte: Adaptado BERNEIRA L et al., 2021.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

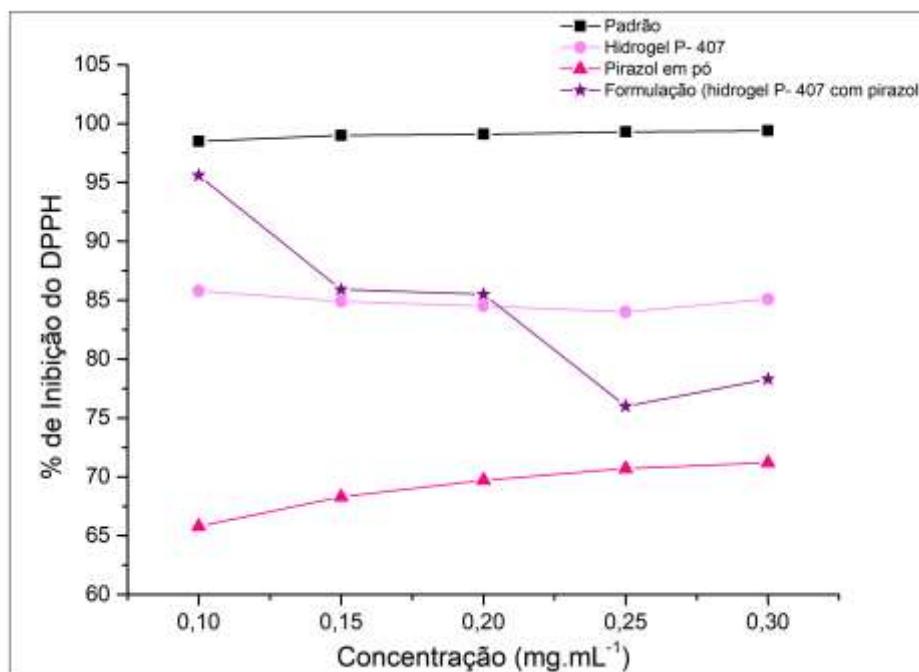
Na **Figura 1** pode-se observar primeiramente a formação do hidrogel P-407, e, em seguida, a excelente incorporação da molécula de pirazol. Pode-se notar uma mudança na coloração do hidrogel de transparente para branco. Também se observou que o pó de pirazol foi totalmente dissolvido no hidrogel P-407, se apresentando em uma forma homogênea.



**Figura 1** – Formação do hidrogel P-407 e a formulação com pirazol.

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada em hidrogel P-407, pirazol em pó e hidrogel P-407 formulado com pirazol. Como pode ser visto na **Figura 2**, o hidrogel isolado possui considerável poder inibitório, visto que o P-407 chegou a inibir  $89,9 \pm 2,3\%$  do radical DPPH a  $0,500 \text{ mg.mL}^{-1}$ . A atividade antioxidante do composto pirazólico em pó (1-tiocarbamoil-5-(4-clorofenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1-pirazol) teve a sua máxima de capacidade de inibição em  $71,2 \pm 0,8\%$  em uma concentração de  $0,300 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Todavia, quando incorporado ao hidrogel se obteve uma inibição de  $95,6 \pm 2\%$  do radical DPPH em uma concentração de  $0,100 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Na literatura, atividade antioxidante de compostos pirazólicos é sugerida pela capacidade de doação de elétrons sendo capazes de estabilizar os radicais. Além disso os derivados de halogênio possuem características lipofílica e de atração de elétrons na qual colaboram com a eliminação de radicais livres (DIAS et al., 2015).

Alguns estudos demonstram as aplicações dos géis P-407 como sistemas, principalmente como carreadores, visto que esses são capazes de modular as características biofarmacêuticas, podendo melhorar a farmacocinética e a distribuição, além de poderem diminuir a toxicidade e efeitos adversos (GIULIANO et al., 2018; PITORRE et al., 2017). Dessa forma, observa-se que a incorporação do composto pirazólico no hidrogel potencializou seu efeito antioxidante em concentrações mais baixas, podendo indicar que o hidrogel P-407 possui propriedades capazes de potencializar a atividade antioxidante como demonstrado nos resultados do teste com radical DPPH.



**Figura 2** - Avaliação da atividade antioxidante utilizando o teste do radical DPPH.

#### 4. CONCLUSÕES

Por fim, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a atividade antioxidante do hidrogel P-407 formulado com pirazol em concentrações baixas foi satisfatória. Também se observou que a utilização hidrogel P-407 foi eficaz devido a potencialização na atividade antioxidante. Dessa forma, estudos

para atividade antimicrobiana devem ser desenvolvidos para perspectivas futuras juntamente com a caracterização da formulação.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARENHOLZ Y. DOXIL® - the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. **J Control Release**. 160(2):117-34. 2012. Acesso em: 04 ago. 2023

BEARD MC, COBB LH, GRANT CS, VARADARAJAN A, HENRY T, SWANSON EA, KUNDU S, PRIDDY LB. Autoclaving of Poloxamer 407 hydrogel and its use as a drug delivery vehicle. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**. 109(3):338-347. 2020. Acesso: 04 ago. 2023

COTTINEAU, B; TOTO, P; MAROT, C; PIPAUD, A; CHENAULT, J. Synthesis and hypoglycemic evaluation of substituted pyrazole-4-carboxylic acids. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, 12(16), 2105–2108. 2002. Acesso: 04 ago. 2023

DIAS, D; PACHECO, B; CUNICO, W; PIZZUTI, L; PEREIRA, C. Recent Advances on the Green Synthesis and Antioxidant Activities of Pyrazoles. **Mini-Reviews in Medical Chemistry**, v. 14, p. 1078-1092, 2015. Acesso: 04 ago. 2023

GIULIANO, E; PAOLINO, D; FRESTA, M; COSCO, D. Drug-Loaded Biocompatible Nanocarriers Embedded in Poloxamer 407 Hydrogels as Therapeutic Formulations. **Medicines (Basel)**. 2018;6(1):7. 2018. Acesso: 04 ago. 2023

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E; VIEIRA, P. Princípios Ativos de Plantas Superiores. Série de textos da Escola de Verão em Química, IV, Ed. **UFSCar**, São Carlos, 2003. Acesso: 04 ago. 2023

LEDNICKER, D; MITSCHER, L. Organic Chemistry of Drugs Synthesis. **A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons**, N Y, 1996, Vol. 1-4. Acesso: 04 ago dez. 2023

PITORRE, M; GONDÉ, H; HAURY, C; MESSOUS, M; POILANE, J; BOUDAUD, D; KANBER, E; ROSSEMOND, GA; BENOIT, JP; BASTIAT, G. Recent advances in nanocarrier-loaded gels: Which drug delivery technologies against which diseases?. **Journal of controlled**, 266, 140–155. 2017. 04 ago. 2023