

SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS – ESTUDO DE MATRIZES POLIMÉRICAS DE PVP (poli-vinil pirrolidona)

Sizue O. Rogero¹, Roberta G. R. A. P. Momesso¹, Sirlene M. Costa¹, Lilian C. Loperogo²,
Ademar B. Lugão¹

¹ Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares – IPEN- CNEN/SP
Av. Lineu Prestes, 2.242 – Cidade Universitária - 05508-900 - São Paulo, SP, Brasil

² Biolab-Sanus Farmacêutica Ltda.
Avenida dos Bandeirantes, 5386, CEP 04071-900 - São Paulo, SP, Brasil
sorogero@ipen.br

Resumo. Matrizes poliméricas como as de PVP são materiais de interesse especial para a formação de hidrogéis. Estes hidrogéis podem ser usados em dispositivos de liberação controlada devido sua biocompatibilidade, possibilidade de incorporação de fármacos de natureza diversa e facilidade de controle do grau de reticulação, ou seja, controle do tamanho de poro da rede polimérica para se modular o grau de liberação de acordo com a cinética desejada. O processo de reticulação por radiação ionizante em solução aquosa pode acarretar reações de hidrólise indesejáveis alterando a atividade dos princípios ativos. Este trabalho visa à obtenção de matrizes de PVP e PEG isentas de água, reticulados por radiação gama. As propriedades físico-químicas foram avaliadas pelos ensaios de intumescimento e fração gel. Avaliação da biocompatibilidade iniciou-se com teste *in vitro* de citotoxicidade. Resultados de intumescimento e fração gel mostraram boa reticulação. Apesar das matrizes apresentarem características adequadas, as mesmas mostraram toxicidade, inviabilizando a sua utilização neste tipo de dispositivo. Estudos serão continuados no sentido de adequar a formulação.

Palavras-chave: Liberação controlada, PVP, Matrizes poliméricas, Citotoxicidade

1. INTRODUÇÃO

A demanda de materiais para aplicações médicas está aumentando continuamente, criando a necessidade de novos produtos comercialmente competitivos (Ramírez *et al.*, 2005). O desenvolvimento de sistemas de liberação controlada tem sido alvo de pesquisas desde que foi sugerida sua aplicação na indústria farmacêutica (Araújo *et al.*, 2003). Os dispositivos utilizados para este fim liberam o ingrediente ativo de forma controlada e contínua mantendo a concentração em níveis desejáveis por longos períodos, sem alcançar níveis tóxicos ou ficar abaixo do nível mínimo efetivo (Heller, 1996). Os hidrogéis poliméricos são materiais que têm uma estrutura de rede tridimensional e podem intumescer consideravelmente em meio aquoso sem dissolução (Chen *et al.*, 2004). Uma variedade de hidrogéis obtida de materiais

sintéticos ou naturais tem sido estudada para serem utilizados em dispositivos de liberação controlada de ingredientes ativos (Rogerio *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2004). Eles são de interesse especial para tal aplicação devido a sua biocompatibilidade com o tecido, a matriz permite a dispersão fácil das drogas e o controle do grau de liberação pode ser alcançado selecionando as propriedades físicas e químicas da rede polimérica (Chen *et al.*, 2004, Gehrke e Lee, 1990). A reticulação pode ser via química ou irradiação (Peppas, 1996). A radiação apresenta vantagens em relação à química como a obtenção de materiais puros, ou seja, isentos de resíduos de reagentes químicos utilizados como iniciadores; a polimerização a baixas temperaturas e a esterilização do produto que ocorre simultaneamente ao processo de reticulação (Bavaresco *et al.*, 2002). No presente trabalho foi realizado um estudo utilizando matrizes poliméricas preparadas com PVP (poli-vinil pirrolidona), PEG (polietilenoglicol) com diferentes massas molares e reticuladas pela radiação gama em diferentes doses com o objetivo de obtenção de matrizes adequadas para compor um sistema de liberação contínua e constante dos fármacos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes utilizados no preparo das matrizes foram o PVP K-90 (Kollidon[®]) proveniente da BASF e PEG 300 e 600 da Oxiteno, ambos de grau farmacêutico.

2.1. Preparo das matrizes poliméricas

Para obtenção das matrizes foram preparadas seis formulações utilizando PVP K90 e PEG com massas molares 300 ou 600 em diferentes concentrações conforme a Tab. 1. As formulações obtidas foram processadas na forma de filmes utilizando papel siliconado e saco de polipropileno que foi selado e enviado para irradiação em fonte gama, de Co-60 com taxa de dose de 10 kGy/h, nas doses de 25, 50 e 75 kGy.

Tabela 1. Formulações utilizadas no preparo de matrizes poliméricas de PVP e PEG

Amostras	PVP K90 (%)	PEG 300 (%)	PEG 600 (%)	Dose (kGy)
1	43	57	-	25
2	43	-	57	25
3	43	57	-	50
4	43	-	57	50
5	43	57	-	75
6	43	-	57	75

2.2. Ensaio de Intumescimento

Os ensaios de intumescimento foram realizados em triplicata utilizando cerca de 100 mg de cada amostra que foi imersa em 100 mL de solução tampão fosfato salina (PBS) pH 7,4. As amostras foram retiradas e suas massas medidas a cada 10 min durante a primeira hora, a cada 15 min na segunda hora, a cada 30 min na terceira hora e após 4 h. Para o cálculo do grau de intumescimento foi utilizada a Eq. (1):

$$\% \text{ Int} = \frac{mf - mo}{mo} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

mo = massa inicial

mf = massa final

2.3. Ensaio de Fração Gel

Os ensaios de fração gel foram realizados em triplicata utilizando amostras de cerca de 100 mg secas em estufa à 60°C. A extração da fração solúvel foi realizada com água destilada em extrator Soxhlet durante 40 h. As amostras foram secas em estufa à temperatura de 60°C até obtenção de peso constante. Para o cálculo da fração gel foi utilizado a Eq. (2):

$$\% \text{ fração gel} = \frac{mf}{mo} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

mo = massa inicial desidratada

mf = massa final

2.4. Teste de Citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo método de incorporação do vermelho neutro seguindo normas internacionais (ISO 10993-5, 1992) e metodologia descrita anteriormente (Rogerio et al, 2003). Utilizou-se cultura de células da linhagem NCTC Clone 929, da American Type Culture Collection (ATCC), colocando-se os extratos das amostras de polímeros diluídos em série em contato com uma monocamada de células cultivadas em microplaca de 96 poços. Os extratos foram obtidos pela imersão da amostra em meio de cultura celular MEM (meio mínimo de Eagle) adicionados de soro fetal bovino e aminoácidos não essenciais.

Os extratos após 24 h de contato com as células na microplaca foram substituídos por MEM contendo o corante vital vermelho neutro, corante este que é incorporado pelas células vivas. A viabilidade celular foi calculada pelas leituras de DO em espectrofotômetro leitor de ELISA Sunrise da Tecan, em 540 nm, em relação ao controle de células no ensaio (100% viabilidade).

A medida da citotoxicidade foi realizada pelo cálculo do índice de citotoxicidade IC_{50%} que é a concentração do extrato que reduz em 50% a viabilidade celular no ensaio. O IC_{50%} foi obtido colocando-se em gráfico a porcentagem de viabilidade celular em relação à concentração do extrato.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio de intumescimento as matrizes de PVP e PEG 300 ou PVP e PEG 600 foram caracterizadas quanto a capacidade de absorção de água e na Fig. 1 estão apresentadas as curvas de intumescimento das mesmas. Após o período de 40 min as matrizes obtidas na dose de 25 kGy sofreram quebras, não sendo possível a determinação de suas massas. No caso das amostras irradiadas com 50 e 75 kGy o grau de intumescimento for maior para a dose de

50kGy tanto na formulação contendo PEG 300 quanto PEG 600, no entanto as amostras 3 e 6 comportaram-se de forma semelhante até 3 h.

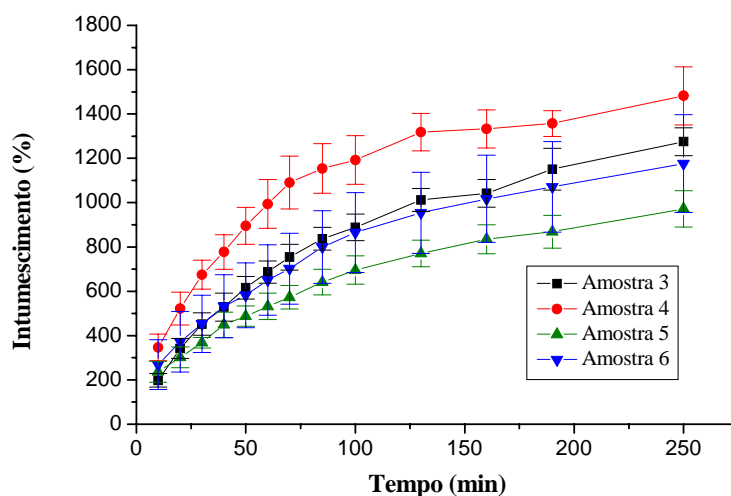


Figura 1. Curvas de intumescimento das matrizes poliméricas de PVP/PEG: amostra 3 (PVP/PEG 300; dose irradiação=50 kGy); amostra 4 (PVP/PEG 600; dose irradiação=50 kGy); amostra 5 (PVP/PEG 300; dose irradiação=75 kGy) e amostra 6 (PVP/PEG 600; dose irradiação=75 kGy).

Os resultados do ensaio de fração gel estão apresentados na Tab. 2 onde pode ser observado que as matrizes obtidas com dose de radiação de 25 kGy tanto para a formulação com PEG 300 como com PEG 600 a porcentagem de fração gel foi praticamente zero, indicando que o grau de reticulação foi muito baixo. A porcentagem de fração gel aumenta com o aumento da dose de radiação chegando a 28% na dose de 75 kGy.

Tabela 2. Resultados dos ensaios de fração gel das matrizes de PVP/PEG

Amostras	mo	mf	% fração gel
1	0,0964 ± 0,0136	0	0
2	0,1014 ± 0,0011	0	0
3	0,1031 ± 0,0062	0,0144 ± 0,0039	14 ± 4
4	0,1083 ± 0,0027	0,0253 ± 0,0005	23 ± 1
5	0,1065 ± 0,0053	0,0295 ± 0,0029	28 ± 1
6	0,1064 ± 0,0008	0,0298 ± 0,0030	28 ± 2

As curvas de viabilidade celular obtidas no ensaio de citotoxicidade estão apresentadas na Fig. 2 onde pode ser observado que as matrizes testadas mostraram comportamento semelhante ao controle positivo, ou seja, mostraram toxicidade. Através do gráfico foram obtidos os índices de citotoxicidade (IC50%): de 32% para o controle positivo e 14, 12, 14 e 15% para as formulações 3, 4, 5 e 6, respectivamente. A toxicidade apresentada pelas matrizes é provavelmente devido à alta concentração de PEG nas formulações estudadas.

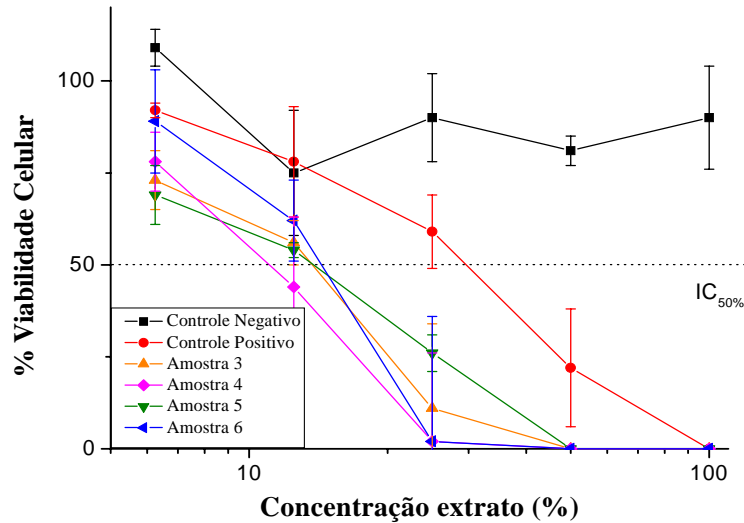


Figura 2. Curvas de viabilidade celular das matrizes poliméricas de PVP/PEG no ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro: amostra 3 (PVP/PEG 300; dose irradiação=50 kGy); amostra 4 (PVP/PEG 600; dose irradiação=50 kGy); amostra 5 (PVP/PEG 300; dose irradiação=75 kGy) e amostra 6 (PVP/PEG 600; dose irradiação=75 kGy).

Com os resultados obtidos neste primeiro ensaio *in vitro* no estudo da biocompatibilidade, identificou-se à necessidade de modificações nas formulações no sentido de diminuir ou eliminar os componentes que causam a citotoxicidade para que os estudos tenham continuidade para obtenção de uma matriz polimérica adequada para compor um dispositivo de liberação controlada de fármacos.

4. CONCLUSÃO

As matrizes poliméricas compostas de PVP e PEG isentas de água apresentaram características físico-químicas adequadas para comporem um sistema de liberação de fármacos. Estudos serão continuados no sentido de diminuir ou eliminar a toxicidade destas matrizes uma vez que no ensaio *in vitro* de citotoxicidade as amostras mostraram-se tóxicas, inviabilizando a sua utilização no tipo de dispositivo proposto neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Embrarad pela irradiação das amostras, ao CNPq pela bolsa Rhae, à estudante Rezolina Pereira dos Santos (IAL) pelo preparo das células em microplacas.

REFERÊNCIAS

Araujo, D.R., Pinto, L.M.A., Braga, A. F.A. (2003) "Drug-delivery systems for local anesthetics: therapeutic applications". *Revista Brasileira de Anestesiologia*. 53, 5, 663-671.

- Bavaresco, V.P., Machado, L.D.B., Zavaglia, C.A.C., Reis, M.C. (2002) “Caracterização Mecânica de Hidrogéis de PVAL para Serem Utilizados como Cartilagem Articular Artificial Reticulados por Radiação”, *Revista Brasileira de Pesquisa e Desenvolvimento*, 4, 3- parte 2.
- Chen, S.C., Wu, Y.C., Mi, F. L., Lin Y. H., Yu, L.C., Sung, H.W. (2004), “A novel pH-sensitive hydrogel composed of N,O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery”, *Journal of Controlled Release*. 96, 285-300.
- Gehrke, S.H., Lee, P.I. (1990), “Hydrogels for Drug Delivery Systems”, in *Specialized Drug Delivery Systems: Manufacturing and Production Technology*, Marcel, H. S., Lee, P.L. Higo, Praveen Tyle (ed.), 41, 333-392.
- Heller, J. (1996), “Drug Delivery Sytems” in *Biomaterials Science*, Ratner, B., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E. Academic Press (ed.), 346-356.
- ISO document 10 993-5, (1992), Biological evaluation of medical devices, Part 5, Tests for cytotoxicity: in vitro methods.
- Peppas, N.A. (1996) “Hydrogels” in *Biomaterials Science*, Ratner, B., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E. Academic Press (ed.), 60-64.
- Ramírez, C., Albano, C., Karam, A., Dominguez, N., Sánchez, Y., González, G. (2005), “Mechanical, thermal, rheological and morphological behaviour of irradiated PP/HA composites”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 236 531-535. In Proceeding of the 6th International Symposium on Ionizing Radiation & Polymers (IRaP 2004), Houffalize, Belgium, 2004.
- Rogero, S.O., Malmonge, S.M., Lugão, A.B., Ikeda, T.I., Cruz, A.S. (2003), “Biocompatibility study of polymeric biomaterials”, *Artificial Organs*, 27, 5, 424-427.
- Rogero, S.O., Sousa, J.S., Alário Júnior, D., Lopérgolo, L., Lugão, A.B. (2005), “Silicone crosslinked by ionizing radiation as potential polymeric matrix for drug delivery”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 236”, 521-525. In Proceeding of the 6th International Symposium on Ionizing Radiation & Polymers (IRaP 2004), Houffalize, Belgium, 2004

DRUG DELIVERY SYSTEM - STUDY OF PVP (poly-vinyl pyrrolidone) POLYMERIC MATRICES

Sizue O. Rogero¹, Roberta G. R. A. P. Momesso¹, Sirlene M. Costa¹, Lilian C. Lopergolo²,
Ademar B. Lugão¹

¹ Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares – IPEN- CNEN/SP
Av. Lineu Prestes, 2.242 – Cidade Universitária - 05508-900 - São Paulo, SP, Brasil

² Biolab-Sanus Farmacêutica Ltda.
Avenida dos Bandeirantes, 5386, CEP 04071-900 - São Paulo, SP, Brasil
sorogero@ipen.br

Abstract. *Matrices of PVP are materials with special interest for hydrogel production. Hydrogels can be used in drug delivery devices due to its biocompatibility, possibility of incorporation of different kind of drugs and simplicity to control the cross-linking degree, i.e., control the pore size of the polymeric network to modulate the degree of release in accordance with the desired kinetic. The crosslinking process by ionizing radiation in aqueous solution can cause undesirable hydrolysis reactions, modifying the activity of the active compound. This work aims to study the synthesis of PVP and PEG matrices without water, cross-linked by gamma radiation. The physical-chemical properties had been evaluated by the swelling and gel fraction assays. Evaluation of the biocompatibility was performed by in vitro test of cytotoxicity. The results of swelling and gel fraction showed very high degree of water absorption and gel fraction in the range of 28%. Nevertheless, the matrices were toxic according to the cytotoxicity assay, making impracticable its use in this type of device. Studies will be continued to adjust the formulation.*

Keywords: Controlled release, PVP, Polymeric matrices, Cytotoxicity