

COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DISSOLUÇÃO DE MATRIZES DE PHB E PCL IMOBILIZADORAS DE TEOFILINA

Duclerc F Parra*, Kiriaki M S Rodrigues, Ademar B Lugao

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Comissão Nacional de Energia Nuclear
Av. Lineu Prestes 2242, Cid. Universitária, São Paulo, SP - dfparra@ipen.br*

Sistemas de liberação controlada de teofilina foram feitos em matrizes de poli-ε-caprolactona (PCL) e poli(3-hidroxibutirato) (PHB). Os resultados demonstram que a maior eficiência de dissolução ocorre para a matriz de PCL. As micrografias de SEM indicam que a matriz de PCL é mais homogênea mesmo na presença de celulose microcristalina.

Palavras-chave: *PCL, PHB, dissolução, liberação controlada
Dissolution efficiency comparison on PHB and PCL theophiline immobilizing matrixes.*

Theophiline drug delivery systems were made with poly ε-caprolactone (PCL) and poly(3-hydroxybutirate) (PHB). The results demonstrated the higher dissolution efficiency in the PCL matrix. The MEV micrographies showed the homogeneity of that system also in formulation with cellulose micro crystalline.

Keywords: *PCL, PHB, dissolution, controlled drug release*

Introdução

PHB tem sido estudado como matriz polimérica em formas farmacêuticas sólidas e possui a vantagem de ser biodegradável e não tóxico uma vez que o seu monômero é um constituinte normal do plasma humano[1,2,3]. A biodegradabilidade é uma condição essencial para um sistema de liberação modificada não-desintegrável, pois previne retenção intestinal em dosagem crônica.

Tecnicamente, o PHB possui propriedades mecânicas semelhantes ao polipropileno, é resistente à água, tem boa estabilidade à radiação ultravioleta e barreira à permeabilidade dos gases. Quanto à biodegradabilidade, ele se decompõe em uma diversidade de meios, liberando apenas água e gás carbônico.

Apesar da biocompatibilidade [4,5], o elevado grau de cristalinidade e sua fragilidade limitam as aplicações do PHB. A fim de se obterem materiais com melhores características, foram feitas blendas de PHB e PEG[3,6]. Estudos realizados verificaram que essas blendas possuem menor cristalinidade, aumento da plasticidade e um maior caráter hidrofílico[1]. O outro polímero que será utilizado no estudo, o PCL, (poli-caprolactona), também é um polímero biodegradável e biocompatível que tem sido objeto de estudos em liberação modificada [7,8].

O PCL é um poliéster de baixo ponto de fusão que pode ser preparado por polimerização de adição da ε-caprolactona, sob aquecimento e presença de catalisador. Este polímero é freqüentemente utilizado como aditivos de resinas para melhorar suas propriedades. É compatível com vários materiais, como o amido e o PVC.

A teofilina, fármaco freqüentemente utilizado no desenvolvimento de formulações farmacêuticas, é conhecida quimicamente como 1,3-dimetilxantina, sendo utilizada como broncodilatador [9]. Relaxa o músculo liso das vias respiratórias brônquicas e vasos sanguíneos pulmonares para aliviar o broncoespasmo e aumentar o fluxo e capacidade vital.

Os mecanismos de ação celular propostos para as metilxantinas são a inibição da fosfodiesterase (e, portanto, o aumento intracelular do AMP-c), efeito na concentração de cálcio intracelular (direto e indireto via hiperpolarização da membrana celular), desacoplamento do cálcio intracelular favorecendo elementos contráteis musculares e antagonizando receptores de adenosina. Crê-se que este último seja o fator mais importante para explicar os efeitos farmacológicos das xantinas. Por possuírem estreita faixa terapêutica, sua

toxicidade é freqüente com o uso crônico e a monitorização torna-se essencial. Formulações de liberação modificada são úteis para diminuição da toxicidade.

Nos sistemas matriciais[2], a liberação do fármaco pode envolver processos de intumescimento do polímero, difusão do fármaco e erosão da matriz. Em alguns casos, o fármaco pode estar ligado quimicamente à cadeia polimérica e ser liberado pela quebra hidrolítica ou enzimática dessa ligação. Um ou mais desses processos podem regular a liberação em uma mesma forma farmacêutica dependendo do tipo de polímero empregado e das propriedades físico-químicas do fármaco.

Nas matrizes insolúveis, constituídas por ceras (nesse caso, também denominadas matrizes hidrofóbicas) ou polímeros insolúveis em água (nesse caso, também denominadas matrizes inertes), o fármaco é liberado essencialmente por difusão (para matrizes hidrofóbicas, pode haver um mecanismo de erosão associado). Em decorrência de sua insolubilidade, a matriz ou parte dela pode ser eliminada nas fezes, mas isso não significa que não houve liberação total do fármaco no trato gastrointestinal[5].

Nas matrizes hidrofílicas, a liberação é regulada pelos processos de intumescimento, difusão e erosão. Quando a forma farmacêutica entra em contato com os fluidos gastrintestinais, o polímero na sua superfície é hidratado e intumescer, formando uma camada gelificada. A camada gelificada é posteriormente dissolvida, promovendo a erosão do comprimido. Outras camadas de gel são formadas e dissolvidas sucessivamente na superfície da forma farmacêutica. O fármaco é liberado por difusão através dessas camadas gelificadas e/ou erosão da matriz. Algumas características dos polímeros utilizados em sistemas de liberação prolongada podem interferir na liberação tais como: composição química (a velocidade de degradação depende do tipo de ligações entre os monômeros. A velocidade de degradação segue a ordem: anidrido > éster > amidas), cristalinidade (quanto maior a cristalinidade menor a taxa de degradação) e caráter hidrofílico (um polímero hidrofóbico degrada mais devagar que um hidrofílico em meio aquoso)[2]. O sistema de liberação ideal deve ser: inerte, biocompatível, mecanicamente forte, confortável, capaz de suportar um carregamento elevado de compostos ativos, seguro contra liberações acidentais, simples de administrar e remover e fácil de fabricar e esterilizar.

Experimental

Dissolução

O teste de dissolução é uma ferramenta muito importante na indústria farmacêutica, tanto no desenvolvimento de produtos quanto no controle de qualidade de rotina. Apesar de ter sido inicialmente desenvolvido para formas farmacêuticas sólidas, nos últimos anos o teste de dissolução vem sendo aplicado também a formas não sólidas, como suspensões, adesivos transdérmicos, e outras.

A dissolução de um fármaco consiste em um processo através do qual o fármaco é liberado da forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo. O teste de dissolução é um teste físico de natureza destrutiva, onde o fármaco passa para a forma solúvel a partir da forma farmacêutica intacta ou de seus fragmentos e partículas, no caso de cápsulas e comprimidos. No teste de dissolução a porcentagem dissolvida do fármaco é medida em determinados tempos de coleta e a avaliação de vários pontos, isto é, o perfil de dissolução, é mais conclusivo do que a avaliação de um único ponto. Na maioria dos casos, é feita a comparação entre uma formulação de referência e uma formulação teste. No presente trabalho, as formulações de referência foram aquelas que não continham PEG. Os ensaios de dissolução dos comprimidos confeccionados foram efetuados em dissolutor Logan D800 - Dissolution tester (Logan Instruments Corp.) de acordo com as condições estabelecidas na Farmacopéia Americana (USP XXVIII): aparato 2 (pá), 50 rpm, água, 900 mL a 37°C.

Foram retiradas alíquotas de 10 mL do meio de dissolução, água destilada degaseificada, com a finalidade de quantificar a porcentagem de teofilina liberada e o volume retirado foi repostado com o mesmo volume do meio de dissolução, à mesma temperatura. As

alíquotas foram retiradas nos tempos contados desde o início do ensaio de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 420, 480 e 1440 minutos.

Foram também confeccionados comprimidos controle com lactose com diluente e sem a matriz polimérica, cujas alíquotas foram retiradas em 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos. A quantidade retirada em cada alíquota foi de 10ml e o volume foi repostado com o meio de dissolução que foi água destilada desgaseificada.

A quantificação do fármaco dissolvido foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS (Beckman Coulter – DU 640), no comprimento de onda de 272 nm, de acordo com varreduras realizadas com soluções do fármaco em água e reta de calibração construída. Após as análises, foram construídas curvas de porcentagem dissolvida do fármaco versus tempo.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para ter uma melhor resolução e visualização de detalhes da matriz polimérica e dos comprimidos utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura, equipamento da marca EDX Philips modelo XR-30. As amostras foram pulverizadas sobre suporte metálico adequado e recobertas com ouro pela técnica de “sputtering”.

Ângulo de contato

Com a finalidade de se avaliar mudança na hidrofobicidade de filmes confeccionados com as matrizes poliméricas em estudo (a concentração de PEG em todos os filmes foi de 10%), foi efetuada a análise de ângulo de contato, através da medida do ângulo de contato de uma gota de água sobre o filme analisado. O ângulo de contato representa o valor em graus que uma determinada substância líquida forma com a superfície, por exemplo, o ângulo formado de uma gota de água sobre a superfície de um filme.

Para realização do experimento uma gota de água de 0,08 mL foi colocada sobre a superfície da amostra com auxílio de uma seringa e a imagem da gota foi captada por uma câmera digital (marca CASIO QV-10).

Os ângulos de contato do lado direito da gota foram calculados automaticamente por meio de *Corel draw 8* software instalado em um computador. Foram realizadas medidas de ângulo do lado direito de três gotas para cada filme estudado. Ângulos de contatos maiores indicam uma menor hidrofobicidade do filme.

Resultados e Discussão

Comparação dos perfis obtidos com as matrizes de PHB+teofilina e PCL+teofilina.

Com a finalidade de comparar as matrizes confeccionadas com polímeros diferentes (PHB e PCL), sem a adição de PEG, foi efetuada análise estatística dos perfis obtidos com comprimidos de PHB+teofilina e PCL+teofilina. As curvas de liberação de teofilina são mostradas na Fig.1. A comparação das ED(%) é ilustrada na Fig. 2 e as análises de f1 e f2 estão listadas na Tab.1.

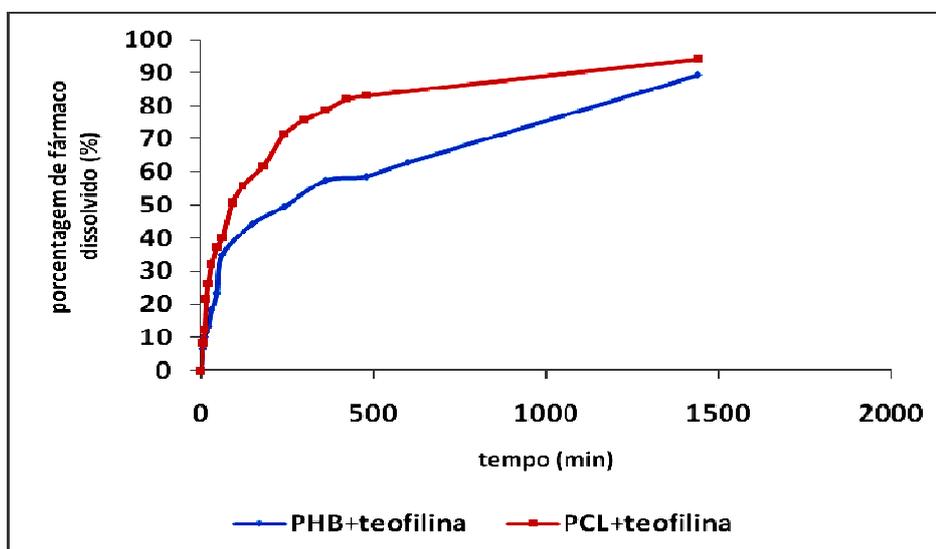


Figura 1: Curva de liberação de teofilina em matrizes de PCL e de PHB, com 50% de celulose microcristalina, média de 3 comprimidos.

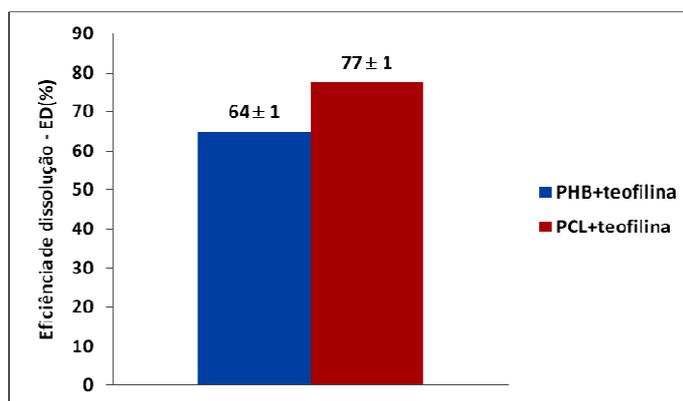


Figura 2: Valores médios de ED(%) para as formulações com PHB e PCL, com 50% de celulose microcristalina. Os valores referem-se à média ± desvio padrão.

A análise dos valores obtidos de f1, f2 e eficiência de dissolução (comparadas através do teste t de *Student*) mostraram que os perfis obtidos são diferentes e que a matriz confeccionada com PCL proporciona uma liberação mais rápida da teofilina.

Tabela 1: Resultados obtidos na comparação dos perfis de dissolução entre as formulações com PHB e com PCL, recorrendo-se aos modelos independentes que empregam o fator de diferença (f1) e o fator de semelhança (f2).

Formulação	f1	f2
PHB + teofilina x PCL + teofilina	31,69	46,93

f1 = fator de diferença

f2 = fator de semelhança

A maior velocidade de liberação da teofilina no comprimido contendo PCL já era esperada devido ao maior caráter hidrofílico do PCL frente ao PHB.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Microscopia das matrizes - Com a finalidade de avaliar a homogeneidade, compararam-se as matrizes obtidas com PHB e PCL, através de fotos obtidas com a microscopia eletrônica de varredura (aumento de 1000 vezes).

A microfotografias das matrizes de PHB e PCL sem a adição de PEG. Na Fig.4 observam-se as matrizes contendo PEG 1500.

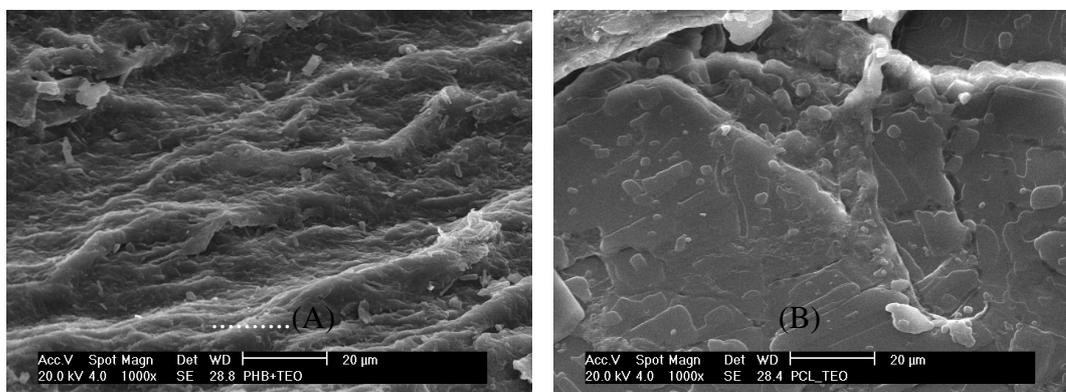
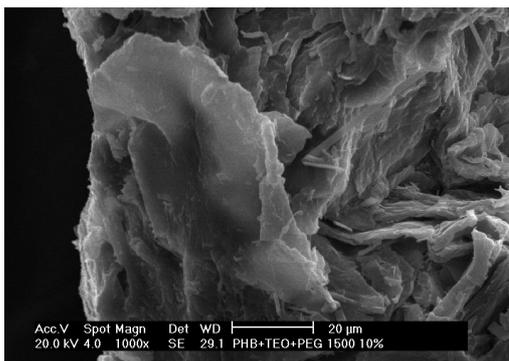
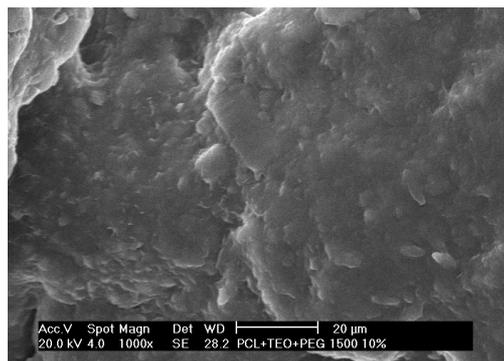


Figura 3 Imagens obtidas através de MEV das matrizes poliméricas confeccionadas com PHB+teofilina (A) e PCL+teofilina (B).



(A)

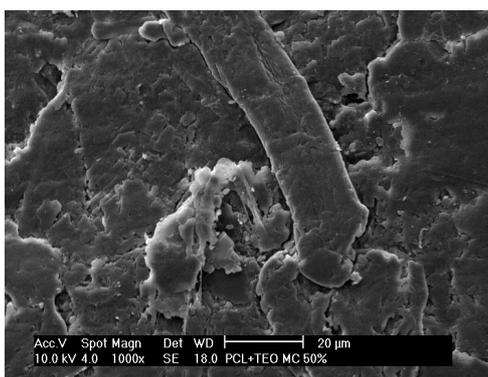


(B)

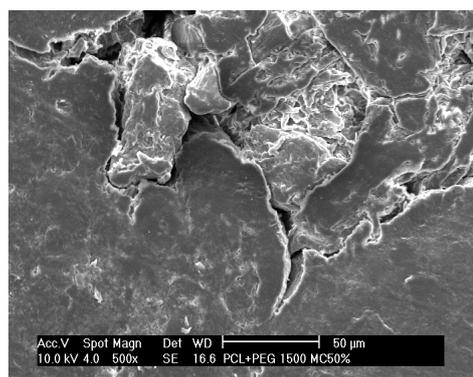
Figura 4 Imagens obtidas através de MEV das matrizes poliméricas confeccionadas com PHB+teofilina+PEG1500 (A) e PCL+teofilina+PEG1500 (B).

Através da observação das imagens percebe-se que nas matrizes com PHB há cristais de teofilina parcialmente recobertos pelo polímero e nas matrizes contendo PCL há uma grande homogeneidade e o fármaco está totalmente recoberto pelo polímero.

Microscopia dos comprimidos - Foram comparadas as imagens obtidas com comprimidos confeccionados com as matrizes poliméricas de PHB e PCL, com a finalidade de se observar a localização dos cristais de celulose microcristalina. Os resultados são mostrados na Fig. 5



(A)



(B)

Figura 5 Imagens obtidas através de MEV de comprimidos confeccionados com PHB+teofilina (A) e PCL+teofilina+PEG 1500 (B).

Tabela 2: medida do ângulo de contato de uma gota de água sobre os filmes confeccionados com PCL

Filme	Média	Desvio padrão
PCL+teofilina	57	1
PCL+teofilina+PEG1500	59	1
PHB+teofilina	65	0,8
PHB+teofilina+PEG1500	62	1

Observando-se as imagens verifica-se que os cristais de celulose estão dispersos entres os grânulos de matriz polimérica comprimida (Fig. 5) e que a superfície do comprimido contendo a matriz com PCL é mais homogênea (Fig.5B).

A determinação do ângulo de contato dos filmes demonstra que os filmes de PCL são mais hidrofílicos do que os filmes de PHB.

Conclusões

Os resultados das dissoluções efetuadas são coerentes com os resultados obtidos na determinação de ângulo de contato realizada em filmes confeccionados com a mesma matriz polimérica utilizada para confecção dos comprimidos. Conclui-se que a adição de PEG 1500 diminui a hidrofilicidade da matriz de PCL, pois a determinação mostrou um ângulo de contato maior. Essa diminuição de hidrofilicidade dificulta a entrada de água no comprimido retardando a dissolução do fármaco e a sua liberação para o meio de dissolução. No caso do PHB permanece mais hidrofóbico que o PCL mesmo com a adição de PEG 1500.

Agradecimentos

Agradecemos à Faculdade de Ciências Farmacêuticas, ao Prof. Pelo uso do dissolutor e ao CNPQ.

Referências Bibliográficas

1. Rodrigues, J.A.F.R.; Parra, D. F.; Lugão, A. B. "Crystallization on films of PHB/PEG blends" *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2005, 79, 379.
2. Lopes, C. M.; Lobo, J. M. S.; Costa, P. "Formas farmacêuticas de liberação modificada de polímeros hidrofílicos" *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 2005, 41, 2.
3. Pouton, C.; Aktar, S. "Biosynthetic polyhydroxyalcanoates and their potential in drug delivery". *Advanced Drug Delivery Reviews* 1996, 18 133-162.
4. Holland, S.J.; Tighe, B. J.; Gould, P. L. "Polymers for biodegradable medical devices. The potential of polyesters as controlled macromolecular release systems." *Journal of Controlled Release* 1986, 4, 155.
5. Gould, P.L; Holland, S.J.; Tighe, B.J. "Polymers for biodegradable medical devices IV. Hidroxybutirato valerato copolymer as non-disintegrating matrices for controlled-release oral dosage forms", *International Journal of Pharmaceutics* 1987, 38, 231.
6. Parra, D.F.; Rodrigues, J.A.F.; Lugão, A. B. "Biodegradable Polymeric Films of PHB from *Burkholderia saccharia* in presence of Polyethylenoglycol", *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2005, 8.
7. Vogelsanger, N., Formolo M. C., Pezzin A. P. T., Schneider, A. L., Furlan, S. Bernardo, H. P., Pezzin, P. H., Pires, A. T. N., Duek "Blendas biodegradáveis de poli(3-hidroxibutirato)/poli(ε-caprolactona): obtenção e estudo da miscibilidade" *Mat. Res.* v.6 n.3 São Carlos abr./jun. 2003
8. Tarvainen, T., Karjalainen, T., Malin, S., Peräkorpä, K., Tuominen J., Seppälä J. and Järvinen K. "Drug release profiles and degradation of a novel biodegradable polymer, 2,2-bis(oxazoline) linked poly(ε-caprolactone)". *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2002, 16(4-5) 1, 323
9. Barr RG, Rowe BH, Camargo Jr CA. Methyl-xanthines for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;(1):CD002168. Review. Update in: *Cochrane Database Syst. Rev* 2003;(2):CD002168.