

## EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA EM PROSTAGLANDINA

**Fernando Rodrigues Coelho<sup>(2)</sup>; Cláudio Kiyoshe Hirai<sup>(3)</sup>; Sizue Ota Rogero<sup>(1)</sup>; Wothan Tavares de Lima<sup>(2)</sup>; Ademar Benévolo Lugão<sup>(1)</sup>.**

1 Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)  
Av. Professor Lineu Prestes 2242  
05508-000 São Paulo, SP  
[sorogero@ipen.br](mailto:sorogero@ipen.br)

<sup>(2)</sup> ICB – Instituto de Ciências Biomédicas/USP  
Av Lineu Prestes, 1524  
05389-970 – São Paulo, SP  
[fer\\_rodrigues-coelho@hotmail.com](mailto:fer_rodrigues-coelho@hotmail.com)

<sup>(3)</sup> Biolab Sanus Farmacêutica Ltda  
Av. dos Bandeirantes, 5386 – Planalto Paulista  
04071-900 – São Paulo, SP  
[chirai@biolabfarma.com.br](mailto:chirai@biolabfarma.com.br)

### RESUMO

A prostaglandina e seus análogos de grande importância fisiológica são freqüentemente utilizados na preparação de medicamentos pela indústria farmacêutica. Porém, sua resistência ao processo de esterilização por radiação é pouco estudada. Portanto, este trabalho tem como objetivo um estudo da atividade relaxante da prostaglandina tipo E1 sobre a musculatura lisa das vias aéreas, após radiação ionizante. A prostaglandina em dispersão 1% em HPMC, seca, foi submetida à radiação gama proveniente de uma fonte de Co-60 com taxa de dose de 10kGy/h nas doses de 0, 50, 75 e 100kGy. A medida da degradação após irradiação foi obtida por análise em HPLC e a verificação da sua atividade biológica pelo ensaio *in vitro* da atividade relaxante de musculatura lisa, em traquéias isoladas de ratos. Os resultados obtidos demonstraram que mesmo na dose máxima de radiação, de 100kGy, a prostaglandina perde somente cerca de 5% da sua atividade de relaxamento de musculatura e sofre degradação de cerca de 30%, em relação à não irradiada. Sugere-se que no teste utilizado a prostaglandina na sua forma de dispersão em HPMC pode ser considerada estável a dose de radiação gama utilizada para esterilização de produtos médicos.

### 1. INTRODUÇÃO

Prostaglandinas são mediadores de origem lipídica, capazes de modificar a fisiologia celular, são mediadores derivados do ácido araquidônico, produzidas em resposta a diversos estímulos celulares. Participam em diversos estágios do organismo são importantes na reprodução, na resposta inflamatória, no controle vascular e na sensibilidade dolorosa. Sua ação se dá por receptores específicos situados na membrana plasmática das células, desencadeiam alterações celulares que podem resultar da estimulação da enzima fosfolipase C ou então da estimulação ou inibição da enzima adenilato-ciclase [1].

A Prostaglandina E1 tem importante função na manutenção do canal arterial e tem importante uso clínico na manutenção da abertura do canal arterial em crianças com cardiopatias

congenitas e também no tratamento de úlceras gastroduodenais. Desse modo procuramos avaliar a influencia do processo de esterilização por radiação na atividade da prostaglandina.

Este trabalho tem como objetivo o estudo da estabilidade da prostaglandina tipo E1 quando submetida à radiação ionizante.

## **2. METODOLOGIA**

A prostaglandina em dispersão 1% em HPMC foi irradiada a seco em fonte de Co-60 com taxa de dose de 10kGy/h, em doses de: 25, 50, 75 e 100kGy. Foram realizadas quantificações da prostaglandina destas amostras irradiadas e da não irradiada no seu teor por HPLC e na perda da atividade relaxante em traquéia de ratos.

### **2.1. Dosagem da Prostaglandina**

#### **2.1.1. Equipamento:**

Sistema HPLC com Bomba isocrática Waters Modelo 515, Detector PDA Modelo 2996, Injetor automático Waters Modelo 717 e Integrador Waters PCM.

As condições cromatográficas foram: fase móvel a mistura acetonitrila : metanol : água (25:40:35 ); coluna C8 4,6 x 250mm Symmetry 5µm Waters; fluxo de 1,5mL/min; leitura em comprimento de onda de 200nm e volume de injeção de 50µL.

#### **2.1.2. Preparação dos padrões:**

Primeiramente prepara-se uma solução estoque dissolvendo o padrão da prostaglandina em acetonitrila : água (1:1). A partir desta solução padrão estoque prepara-se as diluições em água, nas concentrações de: 25, 50 e 100µg/mL.

### **2.2. Atividade Relaxante**

Foram utilizados segmentos de traquéia isolados de ratos sacrificados por excesso de anestesia seguida de dessangramento pela aorta abdominal. Os segmentos foram montados em cubas para órgão isolado para o registro isométrico de contrações. Nas cubas foram colocadas 15mL de solução de Krebs-Henseleit aerada com 95% e 5% CO<sub>2</sub>. Os anéis de traquéia foram expostos a uma carga inicial de 1000mg e a análise foi feita a uma DDP de 500Mv (Powerlab). Durante o período de equilíbrio (40min), a solução de Krebs-Henseleit foi trocada a cada 10 minutos. Após o tempo de equilíbrio a tensão foi reajustada para 1000mg. Foi realizada avaliação da viabilidade tecidual pela capacidade contrátil dos segmentos de traquéias substituindo o tampão Krebs-Henseleit por tampão KCl despolarizante (60mM). As preparações expostas ao KCl forneceram um padrão de contração. Após a avaliação da viabilidade das preparações, o KCl foi substituído novamente pelo tampão Krebs-Henseleit. Decorrido o período de 20min para a obtenção do equilíbrio, as preparações foram estimuladas com acetilcolina (10<sup>-6</sup>M) e depois de alcançado o valor

máximo de contração das preparações foi construída uma curva dose-resposta com soluções de 15µg/mL a cada minuto.

A composição da solução tampão de Krebs-Henseleit (mM) utilizada foi a seguinte: NaCl - 115.0 mM; KCl - 4.6 mM; CaCl<sub>2</sub> 2. H<sub>2</sub>O - 2.5mM; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 1.2mM; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O - 2.5mM; NaHCO<sub>3</sub> - 25.0mM e glicose - 11.0mM.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da dosagem da Prostaglandina tipo E1 (PGE1) na dispersão 1% em HPMC irradiada e não irradiada estão apresentados na Tabela 1.

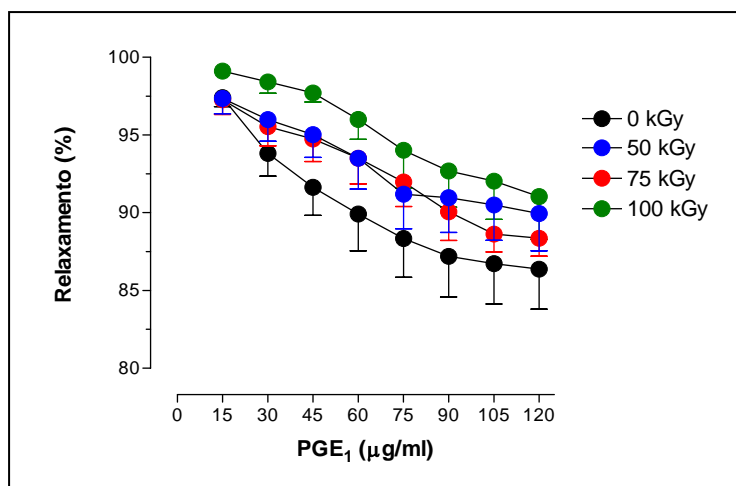
Foi verificado que a PGE1 na dispersão 1% em HPMC, nas condições normais de trabalho, sofre degradação de cerca de 3% e que a degradação pela irradiação aumenta com a dose de radiação chegando a 31% na dose de 75kGy.

**Tabela 1: Resultados da dosagem de Prostaglandina (PGE1) em HPLC na dispersão 1% irradiada em diferentes doses.**

Amostra	[PGE1] %	Dose kGy	Resultado %	% Degradação
I	1	0	0,9653	3
II	1	25	0,8336	17
III	1	50	0,7366	26
IV	1	75	0,6865	31

No ensaio da atividade relaxante da prostaglandina o registro de força isométrica foi realizado usando o sistema, *Power Lab 4sp* e transdutores isométricos (F-60), e a análise dos resultados foi feita utilizando-se o programa *Chart 3.4*.

Na Fig.1 estão apresentadas as curvas da atividade relaxante provocado pela prostaglandina, em traquéia de ratos. Analisando o gráfico da Fig.1, pode se observar que não houve muita diferença de comportamento entre as várias doses de irradiação da prostaglandina em relação à PGE1 não irradiada.



**Figura 1. curvas de relaxamento de segmentos de traquéia obtidos no ensaio *in vitro* da atividade relaxante de prostaglandina.** Efeito da radiação sobre a atividade relaxante de prostaglandina tipo E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) em traquéia isolada de ratos. Os segmentos de traquéia foram isolados e montados para registro de força isométrica. As preparações foram pré-contraídas com acetilcolina (10µM).

As soluções da prostaglandina, irradiada nas doses de 50 e 75kGy, até a concentração de 90µg/mL mostraram comportamento semelhante, com diferença do porcentual de relaxamento em relação ao composto não irradiado ao redor de 2%, indicando que a capacidade de relaxamento da PGE<sub>1</sub> irradiada apresenta uma queda de 2% em relação à não irradiada. As soluções da PEG<sub>1</sub> irradiada na dose de 100kGy apresentaram queda da capacidade de relaxamento em relação à não irradiada de cerca de 5%, em todas as diluições.

Analisando os dados da degradação pela radiação e da atividade relaxante da PEG<sub>1</sub> após irradiação podemos verificar que pode ser utilizado até uma dose de 75kGy, dose esta três vezes superior à dose de esterilização, sem muito prejuízo do composto.

#### 4. CONCLUSÃO

De acordo com estes ensaios podemos concluir que a prostaglandina irradiada a seco, em dispersão 1% em HPMC, sofre pequena degradação, atingindo 31% na dose de 75kGy e que praticamente não perde sua atividade relaxante em musculatura lisa até a dose de 100kGy.

Portanto este princípio ativo poderá ser utilizado em sistema de liberação de fármaco que necessite de radiação gama durante seu processo de fabricação.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos pelas bolsas concedidas pela Fapesp (Iniciação científica) e CNPq (RHAE); pelo apoio científico e financeiro da Biolab Sanus Farmacêutica e pela irradiação das amostras pela Embrarad.

## **REFERÊNCIA**

1. Jancar. S; Tavares-de-Lima. W. *Clínica Médica Medicina Celular e Molecular - Bases Moleculares da Nefrologia*, Atheneu, São Paulo, Brasil, Vol 3, cap 6, pp 61-75 (2004).