

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO IONIZANTE EMPREGADA NA ESTERILIZAÇÃO DE COMPRIMIDOS DE MATRIZ DE PHB PARA LIBERAÇÃO DE TEOFILINA

K.M.S.Rodrigues¹, D.F. Parra¹, M.G. Issa², H.G Ferraz² A. B. Lugão¹

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Centro de Química e Meio Ambiente, CEP 05508-900 Cid.Universitária,São Paulo, SP, Brasil. dfparra@ipen.br

² Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, São Paulo – SP

Resumo: *A teofilina (1,3-dimetilxantina) é um fármaco bastante conhecido e amplamente utilizado no desenvolvimento de formulações. O PHB, poli(3-hidroxi-butirato) é um polímero biodegradável que pode ser investigado enquanto matriz polimérica para confecção de formulações para liberação desse fármaco.*

Esse trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento da teofilina em matriz polimérica de PHB em comprimidos irradiados com diferentes doses de radiação ionizante de fonte gama.

Inicialmente foram obtidos filmes do polímero em mistura com Polietilenoglicol (PEG). Os filmes foram caracterizados antes e após o processo de radiação através dos testes de tração, perfuração, permeabilidade ao vapor de água e TGA. Todos os resultados obtidos demonstram a ocorrência do processo de reticulação dos filmes através do processo de radiação. Foram confeccionados comprimidos de teofilina com PHB e PHB + PEG, os quais foram submetidos à radiação. Foi avaliada a liberação de teofilina em solução aquosa de pH neutro.

Palavras-chave: PHB, PEG, teofilina, liberação modificada

INTRODUÇÃO

O PHB (poli 3-hidroxi-butirato) é produzido pela bactéria *Bulkodéria saccharia* (identificada pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas – IPT). Esta bactéria alimenta-se diretamente de açúcar (sacarose), transformando o excedente do seu metabolismo em grânulos intracelulares que são os poliésteres (PHB). Com um solvente orgânico promove-se quebra da parede celular dos microorganismos e conseqüente liberação dos grânulos. Sua vantagem é levar de um a dez anos para

se degradar no ambiente, enquanto que o plástico de origem petroquímica pode levar centenas de anos para se degradar. Além de propriedades termoplásticas, que lhe permite ser moldado ou transformado em filmes para aplicações diversas, é também biocompatível ^(1,2,3) com potencial para aplicações médico-veterinárias, como suturas, suportes de culturas de tecido para implantes, encapsulação de fármacos para liberação controlada ^(2,3,4), etc.

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.

O elevado grau de cristalinidade e sua fragilidade limitam as aplicações do PHB ⁽⁵⁾. A fim de se obterem materiais com melhores características, foram feitas blendas de PHB e PEG. Estudos realizados verificaram que essas blendas possuem menor cristalinidade, aumento da plasticidade e um maior caráter hidrofílico ⁽⁶⁾.

Porém o PEG possui caráter higroscópico, ou seja, certa afinidade com água. Esta propriedade poderia resultar em um aumento da permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade em água dos filmes de PHB/PEG.

Portanto, com o objetivo de diminuir a solubilidade em água e a permeabilidade ao vapor de água destes filmes foi empregada radiação ionizante após serem confeccionados. Além disso, o uso desta radiação terá a função de melhorar as propriedades mecânicas tornando-os mecanicamente mais resistentes. As doses de radiação empregadas são aquelas empregadas na esterilização de alimentos, a qual se limitam às radiações gama de alta energia, raios X e elétrons acelerados.

A teofilina é a 1,3-dimetilxantina, um fármaco bem conhecido utilizado como modelo no desenvolvimento de formulações.

Os mecanismos de ação celular proposto para as metilxantinas são a inibição da fosfodiesterase ⁽⁷⁾ (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. Afirma-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.

Este trabalho tem por objetivo apresentar um estudo da influência da dose de radiação gama nas propriedades dos filmes de PHB e no perfil de liberação de comprimidos de PHB irradiados.

Foram confeccionados comprimidos de teofilina utilizando as matrizes poliméricas de PHB e de PHB com PEG,. Esses comprimidos foram submetidos à radiação e seu perfil de liberação foi avaliado.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

Para a produção dos filmes foram utilizados Poli-3-hidroxi-butirato (PHB), fornecido pela Usina da Pedra, clorofórmio e polietilenoglicol (PEG) fornecido pela Labsynth MM = 300 (g/mol); teofilina monoidratada (EMS), estearato de magnésio (EMS) e celulose microcristalina.

PRODUÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram obtidos pelo método de derramamento (formação de camada por deposição). São solubilizados 100g do poliéster em clorofórmio, simultaneamente ocorre a adição da quantidade desejada de plastificante, e após a solubilização completa, esta solução é aquecida, até 60°C. Este processo é mantido durante um determinado tempo e com a diminuição gradativa da temperatura, o filme é obtido. Neste período foram confeccionados filmes de PHB/PEG de PEG 300 com concentração igual a 5% deste plastificante.

IRRADIAÇÃO DOS FILMES

Os filmes produzidos foram lacrados e mantidos sob as mesmas condições de temperatura e umidade. A irradiação dos filmes foi feita em fonte de radiação ionizante de Co60 empregando-se as seguintes doses de radiação: 5, 10 kGy

CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

As propriedades térmicas foram estudadas através dos testes de DSC e TGA. Com os testes de DSC foram obtidas as temperaturas de fusão, cristalização e

a porcentagem de cristalinidade dos filmes confeccionados. Os ensaios foram realizados no aparelho DSC-822^e Metter-Toledo, com amostras de 10mg sob as seguintes condições: aquecimento de -50°C a 200°C, resfriamento de 200°C a -50°C e reaquecimento de -50°C a 200°C, com taxa de aquecimento de 10°C.min, em atmosfera inerte de N₂.

Com os testes de TGA foi determinada a temperatura de decomposição destes filmes. No aparelho TGA/SDTA-851^e Metter-Toledo foram realizados os ensaios de TGA, com amostras de 10mg, sob as condições: aquecimento de 25°C a 500°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera de N₂.

PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A permeabilidade ao vapor de água é determinada pelo método dessecante com base na norma E96-80(ASTM, 1995). Amostras dos filmes, em duplicata, foram pesadas inicialmente em uma balança analítica, depois colocadas em células de permeação com sílica em seu interior. Estas células foram condicionadas em dessecadores contendo água destilada a uma temperatura constante de 25° C durante 168h (sete dias) consecutivas. As amostras são pesadas a cada 24h, para verificar a quantidade de vapor de água absorvido e conseqüente aumento de massa neste intervalo de tempo. A figura 1 mostra como este ensaio é realizado.

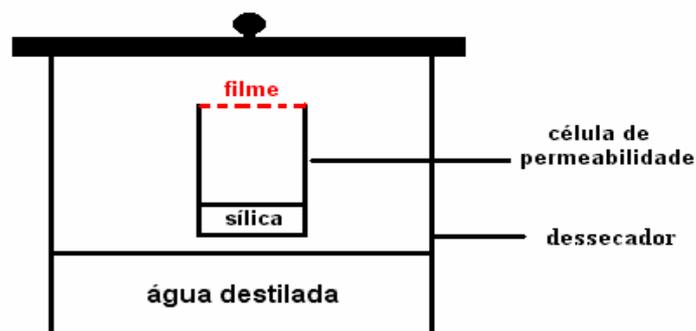


Figura (1): ilustração do método de realização do ensaio de permeabilidade ao vapor de água
A permeabilidade ao vapor de água foi calculada através da expressão (1):

$$PVA = g \text{ H}_2\text{O} \cdot x / A \quad (1)$$

$$[PVA] = g \cdot \text{mm} \cdot \text{cm}^{-2}$$

gH₂O= quantidade de água absorvida (g) pela amostra;
 x = espessura do filme (mm);
 A = área da superfície de contato da amostra(cm²).

A taxa de permeabilidade ao vapor de água em função do tempo (TPVA – g.mm.cm⁻².h⁻¹) é calculada por regressão linear das curvas (PVA x Tempo) obtidas.

TRAÇÃO

Ensaio de tração foram feitos em uma Máquina Universal de Ensaio Mecânicos – INSTRON 4400R, com amostras de cada tipo de filme, cortadas de acordo com a norma ASTM 1997.

PERFURAÇÃO

Os ensaios de perfuração foram executados em um texturômetro TA.XT2i, da Stable Micro Systems, com sensor (sonda cilíndrica) de 3mm de diâmetro.

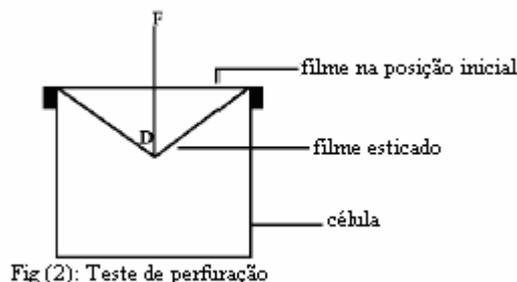
A deformação na perfuração foi calculada conforme a expressão (2)

$$\frac{\Delta l}{l_0} = \frac{(\sqrt{D^2 + l_1^2} - l_1) \times 100}{l_0} \quad (2)$$

Onde: D = deslocamento do sensor até a ruptura

l₀ = comprimento inicial do filme

A figura (2) apresenta um esquema do teste de perfuração:



(2)

PREPARAÇÃO DOS COMPRIMIDOS

O complexo binário foi preparado na seguinte proporção: 20% de teofilina e 80% de PHB e o ternário 20% de teofilina, 5% de PEG 300 e 75% de PHB.

Para a complexação foi feita a solubilização em placa agitadora com aquecimento (Corning PC-320) a uma temperatura de 50 °C durante 1 h, seguida

de evaporação do solvente em Rotaevaporador (Tecnal TE-210). A secagem dos complexos foi feita em estufa com circulação de ar (Fabbe) durante 12 h. Após a secagem, os complexos foram triturados em moinho de facas (IKA – A11 basic), sendo então, adicionados aos excipientes e submetidos à compressão.

A formulação utilizada foi: 500mg do complexo, 250mg de celulose microcristalina PH 102 (Blanver). Os comprimidos foram submetidos à radiação na dose de 10 kGy, sendo posteriormente submetidos a ensaio de dissolução.

Os ensaios de dissolução foram efetuados em dissolutor Logan D800 - Dissolution tester (Logan Instruments Corp.) de acordo com as condições estabelecidas na Farmacopéia Americana (USP XXVII): aparato 2 (pá), 50 rpm, água, 900 mL a 37°C , totalizando vinte e quatro horas de ensaio.

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 leituras realizadas com soluções do fármaco em água e reta de calibração construída.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Propriedades térmicas

Com as análises de DSC foram obtidas as temperaturas de primeira e segunda fusão (T1 e T2 respectivamente), temperaturas de cristalização (Tc) e a porcentagem de cristalinidade dos filmes. Os valores obtidos são apresentados na tabela (1):

Tabela (1): temperatura de 1ª fusão (T1), temperatura de 2ª fusão (T2), temperatura de cristalização (Tc) e porcentagem de cristalinidade dos filmes de PHB/PEG com diferentes massas moleculares e doses de radiação.

Film PHB/PEG x MM y% - z kGy	T1 (°C)	T2 (°C)	Tc (°C)	Crystallinity (%)
PHB puro	176	172	89	38
PHB filme	178	171	71	30
*PHB/ PEG300 5%	158	157	70	33
*PHB/ PEG300 5% - 5 kGy	170	160	74	29
*PHB/ PEG 300 5% - 10 kGy	168	163	66	23

Com os ensaios de TGA foram obtidas as temperaturas de decomposição dos filmes e porcentagem de resíduo ao final do ensaio, estes dados são ilustrados na

tabela (2). As amostras possuem massa média igual a 10mg.

Tabela (2): Temperatura de decomposição de cada filme e porcentagem de resíduo.

Filme	Temperatura de decomposição (° C)	Resíduo (%)
PHB	262	0,86
PHB/ PEG 300 5%	262	2,55
PHB/ PEG 300 5% - 5kGy	259	2,53
PHB/ PEG 300 5% - 10kGy	255	1,10
PHB/ PEG 300 10% - 5kGy	258	9,10
PHB/ PEG 300 10% - 10kGy	256	6,30

Propriedades mecânicas

Ensaio de perfuração

Tabela (3): Resistência a perfuração.

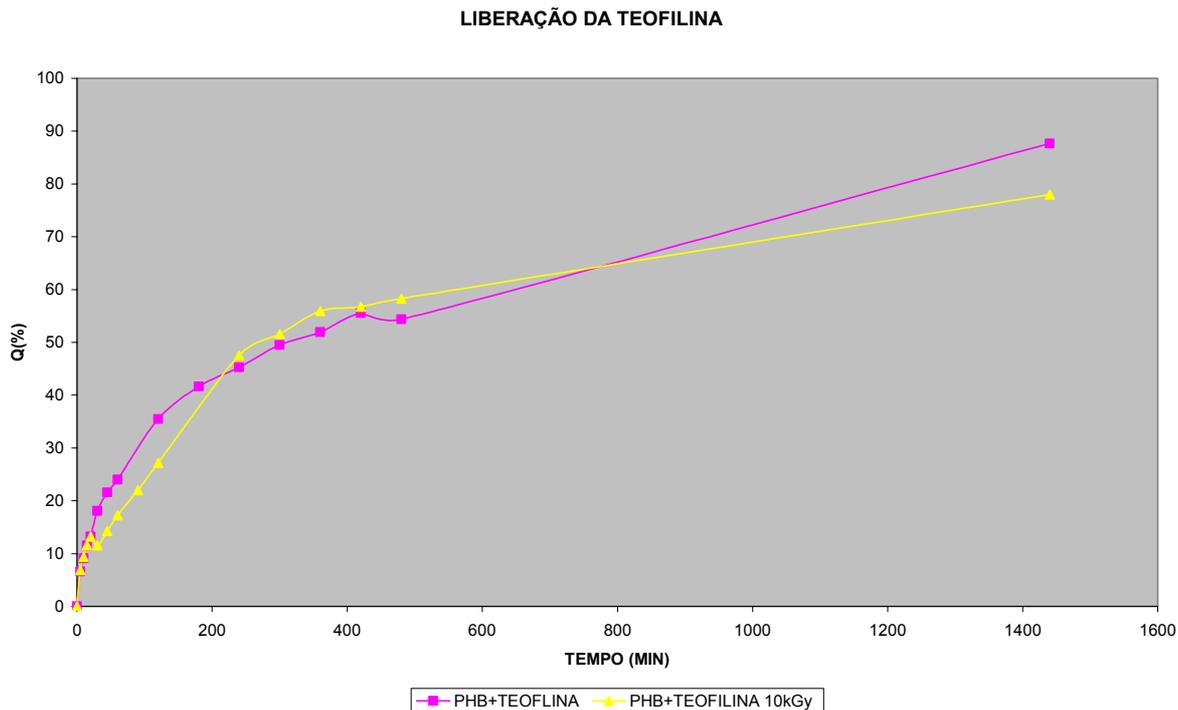
Filme	Resistência à perfuração Força(N)
Puro	0,221 ± 0,039
PHB/PEG 300 10%	0,389± 0,165
PHB/PEG 300 10% - 5kGy	0,161 ± 0,019
PHB/PEG 300 10% - 10kGy	0,137 ± 0,037

Permeabilidade ao vapor de água

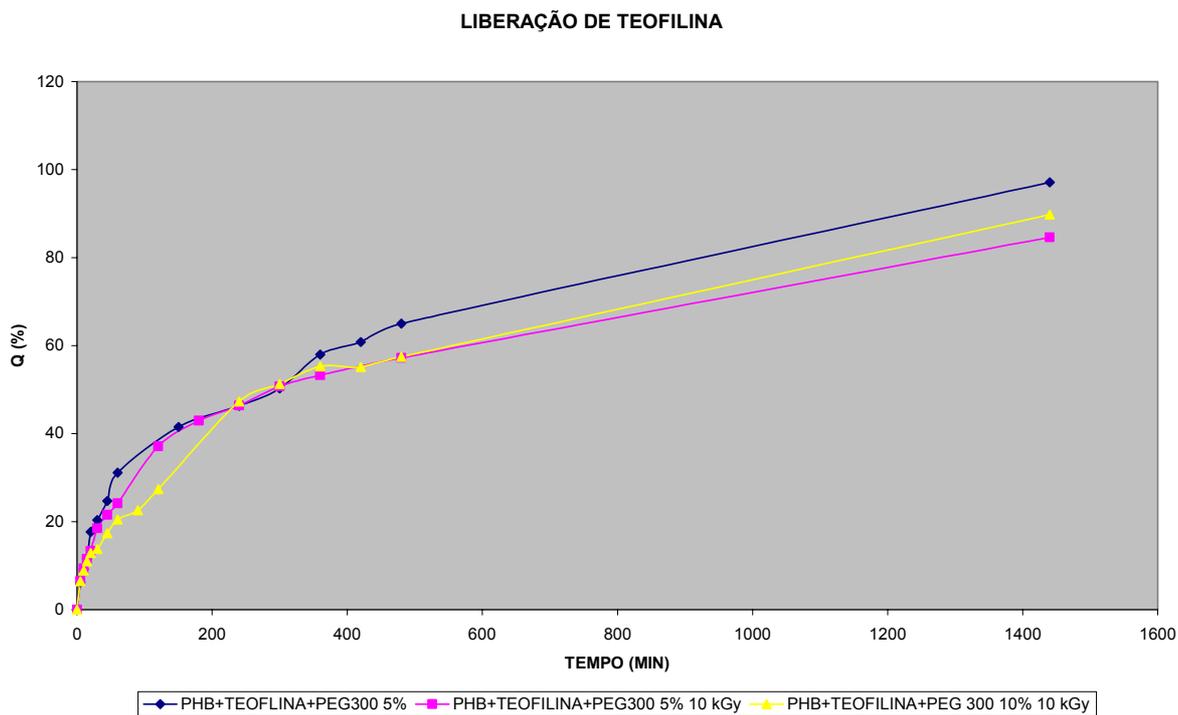
Tabela (4): a taxa de permeabilidade de vapor de água em função do tempo (tPVA) dos filmes e a linearidade das curvas(R²).

Filme	tPVA. 10 ⁻⁸ (g.mm.cm ⁻² .h ⁻¹)	R ²
PHB puro	1,23	0,753
PHB/PEG 300 5%	1,33	0,960
PHB/PEG 300 10%	0,429	0,827
PHB/PEG 300 10% - 5 kGy	0,086	0,846
PHB/PEG 300 10% - 10 kGy	0,058	0,936

Foram obtidos os seguintes perfis de liberação (Fig. 3 e 4)



Fig(3): Perfil de liberação dos comprimidos contendo o complexo PHB+teofilina



Fig(4): Perfil de liberação dos comprimidos contendo o complexo PHB+PEG300+teofilina

Os resultados de dsc análise mostram a influência da radiação gama nos filmes de PHB/PEG. É possível observar o aumento de cristalinidade das amostras irradiadas a 5kGy o que está associado ao mecanismo de cisão das cadeias do PHB

o que facilita a cristalização das cadeias menores. A uma dose superior (10 kGy) esse mecanismo de cisão parece competir intensamente com o mecanismo de reticulação dos filmes por irradiação o que dificulta a formação de cristais do PHB em virtude de sua reticulação com o PEG.

O deslocamento das temperaturas de segunda fusão (DSC) associado à radiação indica que os filmes estão reticulando e com isso deslocando sua temperatura de fusão. As temperaturas de fusão são deslocadas de aproximadamente 4° a 10°C em função da reticulação por radiação. Segundo os resultados de TGA há uma diminuição na temperatura de início de decomposição da blenda com adição de 5% do plastificante.

Os valores de permeabilidade ao vapor de água destas blends diminuem em função da dose de radiação, evidenciando um efeito da reticulação nas mesmas. O efeito da reticulação é corroborado pela diminuição do percentual de cristalinidade e justifica um certo impedimento da cristalização destas blends.

Os resultados obtidos a partir do teste de perfuração ilustram um aumento da resistência à perfuração dos filmes de PHB que contém plastificante, pois estes atribuem maior flexibilidade em relação ao filme de PHB puro. Assim como nos filmes PHB/PEG irradiados, evidenciando o processo de reticulação.

De acordo com os resultados obtidos da dissolução verifica-se que os comprimidos irradiados apresentam um retardo na liberação do fármaco, devido, provavelmente, a um aumento da reticulação da blenda, havendo, assim, uma modificação do perfil de dissolução do mesmo.

CONCLUSÃO

Os filmes de PHB com a adição de plastificante em sua confecção possuem melhor processamento e a flexibilidade em relação aos filmes do poliéster puro.

A radiação utilizada para esterilização influencia nas propriedades térmicas dos filmes. Foi possível observar o deslocamento da temperatura de fusão das blends confeccionadas. Um descolamento maior ocorre com o aumento na dose de radiação gama nos níveis utilizados.

É possível observar o aumento de cristalinidade das amostras irradiadas a 5kGy o que está associado ao mecanismo de cisão das cadeias do PHB em que facilita a cristalização das cadeias menores.

A uma dose superior (10 kGy) esse mecanismo de cisão parece competir intensamente com o mecanismo de reticulação por irradiação dos filmes o que dificulta a formação de cristais do PHB em virtude de sua reticulação com o PEG.

O efeito da reticulação é evidenciado com os resultados de permeabilidade ao vapor de água das blendas, que diminuem em função da dose de radiação. O que demonstra que a cisão está competindo com a reticulação em todo o processo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP e ao CNPQ pelo suporte financeiro.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BORSA, J. Irradiation Facilities: Machine Source Options and Considerations. **Food Irradiation Process Control School**, June, 30-July, 11, 1997.
- (2) CHIELINI, E.; CINELLI, P.; CORTI, A. e KENAWAY, E.R., Composite films based on waste gelatin: thermal–mechanical properties and biodegradation testing **Polymer Degradation and Stability**, v.73, p.549-555, 2001.
- (3) 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**, 4,(1986), 155-18.
- (4) CLEGG, D.W.; COLLYER, A.A. **Irradiation effects on Polymers**. Elsevier Applied Science, 1999.
- (5) RODRIGUES, J.A.F.R.; PARRA, D. F.; LUGÃO ,A. B. Crystallization on films of PHB/PEG blends **Journal of Thermal analysis and Calorimetry** , 79, (2005), 379-381.

- (6) PARRA ,D.F.; RODRIGUES, J.A.F.R.; LUGÃO, A. B. Biodegradable Polymeric Films of PHB from Burkholderia saccharia in presence of Polyetenoglycol, **Pakistan Journal of Biological Sciences**, (2005),8
- (7) 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.