

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA

LAÍS ZUZZI FERRARI

**DESENVOLVIMENTO DE BLENDA DE DEXTRANOS DE DIFERENTES PESOS  
MOLECULARES PARA A OBTENÇÃO DE HIDROGÉIS CONTENDO  
PRAZIQUANTEL**

Araraquara

2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA

**DESENVOLVIMENTO DE BLENDA DE DEXTRANOS DE DIFERENTES PESOS  
MOLECULARES PARA A OBTENÇÃO DE HIDROGÉIS CONTENDO  
PRAZIQUANTEL**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Farmácia-  
Bioquímica da Faculdade de Ciências  
Farmacêuticas de Araraquara, da  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de  
Mesquita Filho” – UNESP, para obtenção  
do grau de Farmacêutica-Bioquímica.

**Aluna:** Laís Zuzzi Ferrari

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Palmira  
Daflon Gremião

**Co-orientador:** Flávio dos Santos  
Campos

Araraquara

2012

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus, pelas oportunidades e crescimento obtidos ao longo da minha caminhada pela graduação.*

*Aos meus pais e irmão, por me ajudarem a ser o que sou, pelo apoio nos momentos difíceis e pela total dedicação em todos esses anos.*

*Ao meu namorado e companheiro Diego, pelo apoio e incentivo durante todos esses anos, por sempre confiar em mim e por me dar forças ao longo dessa jornada.*

*Às minhas amigas e companheiras de moradia, que sempre me apoiaram nas dificuldades e sempre me alegraram nesses 5 anos de convivência.*

*À Prof. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião, minha orientadora, pela paciência e confiança em meu trabalho, pelos conhecimentos adquiridos e por me ajudar na construção do meu futuro.*

*Ao meu co-orientador, Flávio dos Santos Campos, pela ajuda e pela paciência durante esses três anos de trabalho juntos, pela confiança depositada em mim e pelos conhecimentos adquiridos, que serão de grande valia no meu futuro profissional.*

*À amiga Fernanda Kolenyak, pelo apoio e companheirismo no laboratório, pela ajuda e conselhos dados durante a realização do meu trabalho.*

*E a todas as pessoas do Laboratório de Farmacotécnica que também participaram direta ou indiretamente.*

## SUMÁRIO

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| 1. RESUMO.....                                   | 6  |
| 2. LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....                    | 8  |
| 3. LISTA DE TABELAS .....                        | 9  |
| 4. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....          | 10 |
| 5. INTRODUÇÃO .....                              | 11 |
| 6. OBJETIVO.....                                 | 23 |
| 7. MATERIAIS E MÉTODOS.....                      | 24 |
| 7.1. Materiais .....                             | 24 |
| 7.1.1. Equipamentos analíticos e acessórios..... | 24 |
| 7.2. Preparação das blendas e hidrogéis .....    | 25 |
| 7.3. Validação da metodologia analítica .....    | 25 |
| 7.4. Determinação do teor de praziquantel .....  | 30 |
| 7.5. Teste de solubilidade.....                  | 30 |
| 8. RESULTADOS .....                              | 31 |
| 8.1. Validação da metodologia analítica .....    | 31 |
| 8.2. Determinação do teor de praziquantel.....   | 34 |
| 8.3. Teste de solubilidade.....                  | 35 |
| 9. CONCLUSÃO.....                                | 37 |
| 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....             | 38 |

## 1. RESUMO

O desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos tem sido muito utilizado com o intuito de melhorar as propriedades biofarmacêuticas de fármacos. Sistemas de liberação controlada oferecem inúmeras vantagens quando comparados aos sistemas convencionais, o que os tornam candidatos promissores para a melhora da terapia de diversas doenças.

Para o desenvolvimento destes sistemas, várias estratégias utilizam polímeros para modificar as propriedades farmacotécnicas das substâncias e partículas, com o objetivo de melhorar o direcionamento dos fármacos, bem como sua ação e toxicidade. Dentre estes polímeros, os mais utilizados são os polissacarídeos, por serem amplamente disponíveis e de baixo custo. São encontrados na natureza, em fontes diversas, como plantas, algas, microorganismos e animais.

O dextrano, um polímero produzido por microorganismos, bem como seus derivados, têm recebido bastante atenção devido às suas características, como baixa toxicidade e alta degradabilidade enzimática, as quais o torna viável para o carreamento de fármacos. Com o dextrano é possível preparar sistemas de liberação controlada, uma vez que é possível se obter hidrogéis a partir dele, sem a utilização de reticulantes químicos.

Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais hidrofílicas, que absorvem grande quantidade de água ou fluido biológico sem se dispersarem, o que denota a capacidade de intumescimento. Em sistemas de liberação baseados em hidrogéis, o

perfil de intumescimento é uma característica de grande importância, pois pode modificar a propriedade de transporte do fármaco.

Neste contexto, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar a possibilidade da produção de hidrogéis de dextrano de diferentes pesos moleculares, para modular a liberação do fármaco praziquantel, utilizado no tratamento da esquistossomose, que apresenta ação contra todas as espécies importantes causadoras dessa doença.

## 2. LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Fórmula molecular e estrutural do praziquantel ..... | 15 |
| Figura 2: Fórmula estrutural do dextrano .....                 | 20 |
| Figura 3: Curva analítica .....                                | 32 |
| Figura 4: Teor de PZQ .....                                    | 35 |
| Figura 5: Solubilidade do PZQ .....                            | 36 |

### 3. LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Coeficiente de variação dos valores de absorbância obtidos para o PZQ nas amostras empregadas no teste de precisão..... | 32 |
| Tabela 2: Percentual de recuperação de massa de fármaco das amostras.....                                                         | 33 |
| Tabela 3: Limite de detecção e limite de quantificação do praziquantel em 263 nm..<br>.....                                       | 34 |

#### 4. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|            |                                        |
|------------|----------------------------------------|
| <b>BCS</b> | Biopharmaceutics Classification System |
| <b>DDS</b> | Drug delivery system                   |
| <b>DEX</b> | Dextrano                               |
| <b>kDa</b> | Quilodalton                            |
| <b>LD</b>  | Limite de detecção                     |
| <b>LQ</b>  | Limite de quantificação                |
| <b>PVP</b> | Polivinilpirrolidona                   |
| <b>PZQ</b> | Praziquantel                           |
| <b>TGI</b> | Trato gastrintestinal                  |
| <b>UV</b>  | Ultravioleta                           |

## 5. INTRODUÇÃO

O estudo dos sistemas de liberação de fármacos é de grande importância dentro do campo farmacêutico. Isso porque eles oferecem inúmeras vantagens quando comparados aos sistemas de dosagem convencional. Dentre essas vantagens, pode-se destacar a sua liberação controlada do fármaco, a partir da degradação de uma matriz; diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência do fármaco no local de ação ou absorção, número de doses; e possibilidade de direcionamento a alvos específicos (AZEVEDO, 2002).

Para o desenvolvimento dos sistemas de liberação controlada, várias estratégias têm utilizado polímeros para modificar as características farmacotécnicas das substâncias e/ou das partículas, com o objetivo de melhorar o direcionamento dos fármacos, bem como sua ação e toxicidade (SIMONSEN, 1995). Entende-se por polímeros moléculas orgânicas ou inorgânicas complexas, de alto peso molecular, cuja estrutura consiste na repetição de pequenas unidades chamadas monômeros (JACOBS, 1993).

De fato, o principal interesse em relação a esses sistemas de liberação é a sua programabilidade. Um exemplo simples é a possibilidade da liberação de insulina de uma matriz polimérica somente em resposta ao aumento da concentração de glicose em pacientes diabéticos. Tal sistema pode ser obtido a partir de polímeros inteligentes, que possuem sensibilidade ativa a sinais do ambiente (enzimas e biomoléculas) e mudanças de propriedades físico-químicas (temperatura, luz, eletricidade, pH e forças iônicas). Além disso, no que diz respeito à programabilidade, também é possível desenvolver sistemas de liberação

direcionados ao seu alvo de ação, minimizando assim efeitos colaterais e mantendo uma alta concentração local por um maior período de tempo (KIM, 2009).

Dentre os polímeros, os polissacarídeos têm sido os mais empregados no desenvolvimento de sistemas de liberação, devido às suas características que os tornam ideais para o uso farmacêutico: são amplamente disponíveis, de baixo custo, possuem vários grupos reativos, ampla faixa de massas moleculares e podem variar a composição química. Além disso, são altamente estáveis, não tóxicos, seguros, hidrofílicos e formam hidrogéis. Outra característica importante dos polissacarídeos é a capacidade de absorver grandes quantidades de água sem se dispersar, o que denota a propriedade de intumescimento, a qual é uma das principais características para a formação dos hidrogéis (CAMPOS, 2009; AZEVEDO, 2002; BARCELLOS et al., 2000; COVIELLO, 2007; CASSANO, 2009). Na natureza, podemos encontrá-los em diversas fontes, como algas (alginato), plantas (pectina), microorganismos (dextrano) e animais (quitosana) (CAMPOS, 2009).

O dextrano, um polímero produzido por microorganismos, é biodegradável e atóxico. É utilizado como expensor de plasma, promotor de regeneração óssea, também para preenchimento dérmico e subcutâneo, além de amplamente estudado como carreador polimérico em sistemas de liberação de fármacos (CAMPOS, 2009; BARSBAY, 2007).

O dextrano e seus derivados estão entre os mais promissores para a preparação de hidrogéis capazes de conceber uma liberação controlada. Esses hidrogéis têm recebido bastante atenção, por serem pouco tóxicos aos tecidos, terem uma alta degradabilidade enzimática, e boa biocompatibilidade, características estas que os tornam alternativas viáveis para o carreamento de fármacos (BARCELLOS et al., 2000; COVIELLO, 2007; CASSANO, 2009).

Hidrogéis são definidos como redes poliméricas tridimensionais hidrofílicas, que não se dissolvem, sendo capazes de absorver grande quantidade de água ou fluido biológico. Podem variar o grau de hidratação, dependendo do pH e temperatura do ambiente aquoso, bem como da composição do polímero. Ou seja, a quantidade de água absorvida depende diretamente da estrutura química do polímero, pois a sua afinidade pela água está relacionada à presença de grupos hidrofílicos, tais como  $-OH$ ,  $-CONH$ ,  $-CONH_2$  e  $-SO_3H$  na estrutura que forma tal polímero (HAMIDI et al, 2008; KIM et al, 2008). Portanto, a hidrofilia do polímero, a estrutura de rede formada e o número de grupos ionizáveis presentes na estrutura polimérica determinam a quantidade de água absorvida pelo polímero (CURY, 2005).

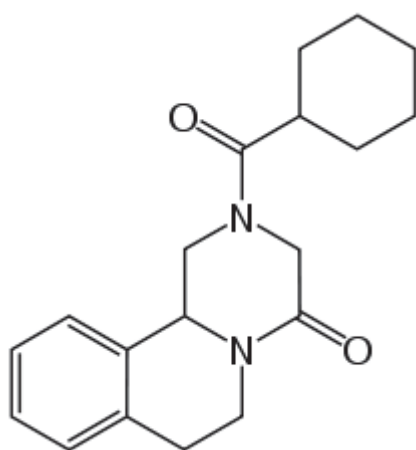
Os hidrogéis podem ser preparados tanto a partir de polímeros naturais como também a partir de polímeros artificiais ou sintéticos (náilon, PVC, poliésteres, teflon, etc.). Aqueles preparados a partir de polímeros naturais oferecem várias vantagens em relação aos demais, como: baixa toxicidade, biocompatibilidade, e apresentam propriedades físico-químicas notáveis, o que os tornam apropriados para aplicações nos sistemas de liberação de fármacos (HAMIDI et al, 2008). É por essa razão que o dextrano, um polímero natural originário de microorganismos, tem sido um candidato ao desenvolvimento de hidrogéis para sistemas de liberação controlada (CAMPOS, 2009).

### 5.1. Praziquantel (PZQ)

O praziquantel é um fármaco anti-helmíntico de amplo espectro, pirazinoisoquinolínico, altamente ativo, que foi descoberto em 1970 e posteriormente introduzido para o tratamento da esquistossomíase (Andrews et al., 1983). Ele é o fármaco de escolha para todas as formas de esquistossomose e é comumente usado nos programas de controle nacional da doença. Este fármaco afeta não apenas os esquistossomos adultos, como também as formas imaturas e as cercárias, que são as formas do parasita que infestam os seres humanos (Rang & Dale, 2007).

Também conhecido por 2-(ciclohexilcarbonil)- 1,2,3,6,7,11 b – hexahidro – 4H – pirazino (2,1 – a) isoquinolina – 4 – ona, é um pó cristalino, sem cor e sem cheiro e com sabor amargo característico, estável em condições normais de temperatura e armazenamento (LIMA, 2006). Apresenta fotossensibilidade, e sua faixa de fusão é entre 136 e 142°C, e sua solubilidade em água é de 0,4mg/mL, 97mg/mL em etanol e 567mg/ml em clorofórmio (USP 31, MERCK INDEX).

A figura 1 mostra as fórmulas estrutural e molecular, bem como a massa molecular do PZQ.



C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, M.M.: 312,4

Figura 1. Fórmula molecular e estrutural do praziquantel

O fármaco aparentemente compromete a homeostase do Ca<sup>2+</sup> no parasita, unindo-se aos locais de ligação reconhecidos da proteína quinase C, em uma subunidade beta dos canais de cálcio controlados por voltagem do esquistossomo (Greenberg, 2005). Isso induz um influxo do íon, que ocasiona dois efeitos principais, minutos após a exposição ao fármaco: uma contração rápida e prolongada da musculatura, e a eventual paralisia e morte do verme. O praziquantel também compromete o tegumento do parasita, disponibilizando novos antígenos na superfície do verme, e como resultado ele pode tornar-se mais suscetível às respostas imunológicas normais do hospedeiro (Greenberg, 2005; Rang & Dale, 2007).

O praziquantel é considerado um fármaco muito seguro, com efeitos colaterais muito fracos, na dosagem terapêutica. Tais efeitos, quando ocorrem, são geralmente transitórios e raramente de importância clínica. São eles os distúrbios gastrintestinais, tontura, dores muscular e articular, erupções cutâneas e febre baixa. É também considerado seguro para mulheres grávidas e lactantes (Rang & Dale, 2007).

Administrado oralmente, o PZQ é bem absorvido; porém, apresenta problemas de biodisponibilidade, devido à baixa solubilidade, além de sofrer forte metabolismo de primeira passagem, sendo transformado rapidamente em metabólitos inativos (Rang & Dale, 2007). Ele está enquadrado no grupo II, dentro do *Biopharmaceutics Classification System (BCS)*, ou seja, ele é um fármaco de baixa solubilidade e alta permeabilidade no TGI. O BCS é uma ferramenta básica de dados científicos para classificação de fármacos baseada na solubilidade em água destes, relacionada com a dose em três pHs relevantes e permeabilidade intestinal (CAMPOS, 2009).

Devido a todas estas características, a dose administrada para tratamento é relativamente elevada, e por isso, várias estratégias vêm sendo desenvolvidas para melhorar estes parâmetros falhos, a fim de reduzir a dose e a quantidade de administrações do fármaco. Tais estratégias incluem a preparação de co-precipitados e misturas físicas de fármaco-PVP e complexos formados por  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -ciclodextrina e PZQ (LIMA, 2006;PASSERINI, 2006; SOUZA, 2008).

Assim, procedimentos que melhorem as propriedades físico-químicas do PZQ, bem como sua eficácia terapêutica, são de grande importância no campo farmacêutico.

## **5.2. Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos**

A maioria dos fármacos existentes hoje, principalmente aqueles estruturalmente específicos, têm uma faixa de concentração que define os níveis de segurança e eficácia. As concentrações que se encontram acima ou abaixo destas podem ocasionar ineficiência terapêutica, bem como toxicidade ou sintomas

anteriormente não evidenciados (KAPARISSIDES et al., 2006). Isso acontece pois o fármaco é transportado pela corrente sanguínea atingindo todos os tecidos, órgãos e sistemas, e não apenas o seu alvo de ação, induzindo assim os efeitos adversos. Sendo assim, a única vantagem vista nas formulações convencionais é o baixo custo de desenvolvimento (KIM, 2009).

Além disso, sabe-se que nas formulações convencionais, é difícil manter a dose terapêutica por longos períodos, sendo necessária a administração múltipla do fármaco para obter o efeito terapêutico desejado.

Dessa forma, várias estratégias vêm sendo propostas com o objetivo de manter, em níveis terapêuticos, a concentração do fármaco por um maior período de tempo, promovendo maior adesão ao tratamento, aumento dos intervalos de administração, diminuição dos efeitos colaterais, entre outros. Tal estratégia, denominada sistema de liberação controlada de fármacos (drug delivery system – DDS), exige uma ampla interdisciplinariedade, pois abrange os campos de ciências farmacêuticas, química dos colóides, ciência dos polímeros, físico-química e biologia molecular (KAPARISSIDES *et al.*, 2006).

O termo liberação controlada surgiu para descrever formas farmacêuticas que apresentam características de liberação com base no tempo, duração e/ou localização, desenvolvidas para alcançar os objetivos terapêuticos e conveniências não oferecidas pelas formas de liberação imediata ou convencional (BOGNER, 1997).

Os sistemas de liberação controlada são compostos de uma ampla variedade de opções, sendo elas: lipossomas, esferas e microesferas revestidas, bombas osmóticas, revestimentos entéricos, sistemas transdérmicos, pró-fármacos, sistemas matriciais poliméricos, nanopartículas, entre outros. Dentre estes, de

maneira particular, os sistemas matriciais constituídos por vários tipos de polímeros são opção interessante para a produção de um sistema de liberação controlada, devido às vantagens inerentes a estes sistemas: versatilidade, eficácia, baixo custo, e produção que recorre a equipamentos e técnicas convencionais. Além disso, os sistemas matriciais permitem incorporar quantidades relativamente elevadas de fármacos (LOPES, 2005).

Em suma, os polímeros são agentes versáteis e promissores para a produção de sistemas matriciais de liberação controlada.

### **5.3. Polímeros**

A fusão da ciência dos polímeros com as ciências farmacêuticas conduziu para um grandioso avanço em termos de inovação no desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos (PILLAI; PANCHAGNULA, 2001).

Materiais poliméricos farmacêuticos com baixa toxicidade podem ser utilizados como membranas ou matrizes nas quais o princípio ativo é disperso. Polímeros também agem como veículos, podendo ser adicionados ao princípio ativo. Esses carreadores podem ser utilizados para liberar controladamente uma grande quantidade de fármacos no TGI (ZHU, 2002).

Dentre as várias propriedades dos polímeros, algumas se demonstram mais importantes quando na elaboração de um sistema de liberação de fármacos, como a permeabilidade (JACOBS; MASON, 1993), hidrofília, lubrificação, lisura (ANGELOVA; HUNKELER, 1999), adesão, solubilidade (PILLAI; PANCHAGNULA, 2001).

Uma variedade de classes de polímeros tem sido utilizada em sistemas de liberação controlada, devido às suas diferentes permeabilidades (JACOBS; MASON, 1993). Os mais comuns incluem polissacarídeos - hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e etilcelulose (EC), pectina; polivinilpirrolidona (PVP) e ésteres poliacrílicos. Dentre todos os polímeros, os polissacarídeos são os mais populares materiais poliméricos, devido a uma série de características que os tornam ideais para o uso farmacêutico (CAMPOS, 2009). Eles são polímeros de monossacarídeos, extremamente disponíveis, baratos e biodegradáveis, o que os tornam a melhor opção para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada.

#### **5.4. Dextrano**

O dextrano é um carboidrato composto por monômeros de  $\alpha$ -D-glicose ligados basicamente por ligações glicosídicas  $\alpha(1-6)$ , com rotação óptica positiva e fórmula empírica  $(C_6H_{10}O_6)_n$ . Estes  $\alpha$ -D-glucanos possuem também cadeias laterais que se originam das ligações ramificadas  $\alpha(1\rightarrow2)$ ,  $\alpha(1\rightarrow3)$  e  $\alpha(1\rightarrow4)$  (COVIELLO, 2007). É produzido por bactérias da espécie *Leuconostoc mesenteroides* B512F, quando da fermentação da sacarose (COVIELLO, 2007; LLOYD, 1997). É um polímero predominantemente linear com diversas massas moleculares que atribuem propriedades físico-químicas, como solubilidade e viscosidade, diferentes. Ele pode ser degradado através da ação das dextranases em vários órgãos no corpo humano, como fígado, baço, rins e cólon (CAMPOS, 2009; FERREIRA et al., 2004). Os dextranos hidrossolúveis com massa molecular menor que 30kDa podem ser excretados através dos rins. Segundo Hiemstra et al., os dextranos apresentam uma degradação enzimática mais lenta que os outros polissacarídeos, permitindo que,

quando em uma matriz de liberação controlada, libere o fármaco mais lentamente, prolongando assim sua ação.

A Figura 2 apresenta a estrutura básica do dextrano.

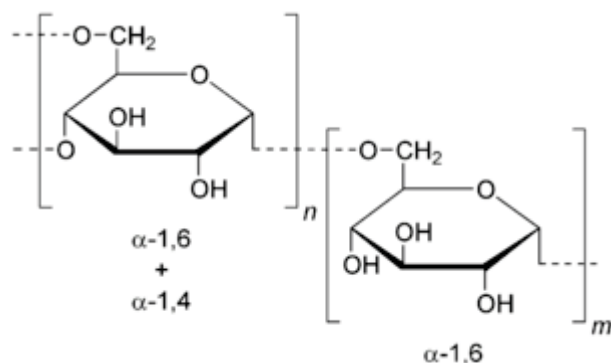


Figura 2: Fórmula estrutural do dextrano.

### 5.5. Hidrogéis

Hidrogéis podem ser definidos como estruturas poliméricas tridimensionais, altamente hidrofílicas, cuja principal característica é a de absorverem grandes quantidades de água ou fluídos biológicos sem se dispersarem (PEPPAS *et al*, 2000), propriedade esta denominada intumescimento.

Nos sistemas de liberação controlada baseados em hidrogéis, a taxa de intumescimento é um parâmetro essencial, pois exerce grande influência sobre a propriedade de transporte de fármacos e é determinada pelo quão entrelaçadas são as cadeias poliméricas, bem como pelo tamanho dos poros. A taxa de intumescimento é controlada pela estrutura da rede, hidrofília e grau de reticulação (quando houver). Sua afinidade com a água é devido a presença de grupos hidrofílicos na estrutura formadora do polímero, tais como  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CONH}$ ,  $-\text{CONH}_2$  e  $-\text{SO}_3\text{H}$ . Graças a esses grupamentos, o polímero pode ser hidratado em diferentes

graus, dependendo da natureza do ambiente aquoso e composição do polímero (CAMPOS, 2009; HAMIDI et al, 2008; KIM et al, 2008).

Segundo Hamidi e colaboradores (2008), os hidrogéis podem ser classificados de acordo com diversas características, as quais incluem a natureza dos grupos laterais (neutros ou iônicos), propriedades mecânicas e estruturais, método de preparação (homo ou co-polímero), estrutura física (amorfo, semicristalino, pontes de hidrogênio, hidrocoloidal), e sensibilidade a estímulos ambientais (pH, temperatura, forças iônicas, entre outros).

Atualmente, tem-se observado um grande interesse em hidrogéis preparados a partir de polissacarídeos. Estes não são mais do que hidratados de carbono, nos quais ocorre uma repetição de sua unidade estrutural. São provenientes de fontes renováveis e apresentam vantagens econômicas quando comparados a outros materiais (COVIELLO, 2007). Sua elevada hidrofiliabilidade, a facilidade através da qual se consegue produzir hidrogéis a partir deles e sua biocompatibilidade tem feito destes materiais um objeto de estudo altamente utilizado para fins biomédicos (ALMEIDA, 2010). Devido a isso, o dextrano vem sendo extensivamente pesquisado como um candidato promissor ao desenvolvimento de hidrogéis para sistemas de liberação controlada de fármacos (CAMPOS, 2009).

Nesse contexto, OS trabalhos realizados por CAMPOS (2009) utilizando dextrano de diferentes pesos moleculares mostram que é possível desenvolver hidrogéis através de um método simples, sem a utilização de reticulantes químicos para a liberação prolongada do fármaco, graças à capacidade de intumescimento dos hidrogéis formados. Pode-se concluir que o dextrano se mostrou um polímero adequado para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, uma vez que foi possível a obtenção de hidrogéis a partir deste polímero, os quais apresentaram perfis de

intumescimento e liberação diferenciados, variando conforme o peso molecular (CAMPOS, 2009).

O hidrogel produzido a partir do dextrano 70 kDa apresentou um taxa de intumescimento regular, porém menor que a observada no hidrogel produzido a partir do dextrano 148kDa em um período de tempo de 120 minutos. Pode-se notar também que o perfil de intumescimento se refletia no comportamento de liberação, ou seja, como o dextrano 70kDa tem uma taxa de intumescimento menor, sua liberação foi mais prolongada em relação ao dextrano 148 kDa (CAMPOS, 2009). Com base nesses resultados, cogitou-se a possibilidade de produção de um hidrogel a partir da preparação de blendas de dextranos de diferentes pesos moleculares. A utilização dessas blendas pode permitir o desenvolvimento de sistemas com propriedades de intumescimento e liberação diferentes, que podem propiciar um controle de suas propriedades físico-químicas e assim desenvolver um sistema mais idealizado em termos de sistemas de liberação de fármacos.

## **6. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi a preparação de blendas de dextrano de diferentes pesos moleculares, bem como a avaliação da capacidade destas em formar hidrogéis, podendo, futuramente, ser utilizadas como sistemas de liberação controlada de fármacos.

## **7. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **7.1. MATERIAIS**

- Praziquantel (Shangai Pharmaceutical®)
- Dextrano 70 kDa (TCI®)
- Dextrano 148 kDa (Sigma®)
- Álcool Etílico Absoluto 99,5% (Synth®)
- Água deionizada
- Ácido Clorídrico 37% (Chemis®)
- Laurilsulfato de sódio (BDH Chemicals Ltda.)

#### **7.1.1. EQUIPAMENTOS ANALÍTICOS E ACESSÓRIOS**

- Espectrofotômetro Ultravioleta (Hewllet-Packard® Kayak-XA)
- Evaporador rotativo (Marconi – MA 120)
- Bomba de Vácuo (Tecnal® TE-058)
- Balanças analíticas (OHAUS Analytical Standard AS 200 ; Shimadzu AW 220)

## **7.2 PREPARAÇÃO DAS BLENDA E HIDROGÉIS**

As blendas foram preparadas com dextranos de diferentes massas moleculares (70kDa e 148kDa) em proporções de massa variadas pré determinadas (1:1 e 1:3).

A incorporação do praziquantel foi feita pelo método de dissolução e evaporação de solvente, através de liofilização. Neste método, o fármaco foi, inicialmente, solubilizado totalmente em solução hidroalcoólica. Logo após, foi adicionado o polímero que foi solubilizado parcialmente na mesma solução hidroalcoólica, uma vez que uma pequena parte forma uma suspensão de coloração levemente esbranquiçada. Esta solução foi, então, distribuída em placas de Petri e colocada em capela com exaustor ligado, no intuito de eliminar a maior parte do álcool etílico por evaporação para, posteriormente, ser armazenado em congelador por 24h. Após, esse período as amostras foram liofilizadas, onde permaneceram por mais 24h para total eliminação da água. Por fim, as amostras secas foram pulverizadas e armazenadas adequadamente, em frascos de vidro âmbar.

## **7.3. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA EMPREGADA PARA A DETERMINAÇÃO DO TEOR E DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA**

Este experimento foi realizado para garantir, por meio de estudos experimentais, que a metodologia utilizada para a determinação do teor e da eficiência de incorporação atendesse às exigências analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos. Para tanto, os parâmetros de validação

estudados foram: especificidade, linearidade, precisão, recuperação, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) (ANVISA, 2003; ICH, 1996; USP, 2002).

### **Especificidade**

Especificidade é a capacidade do método de avaliar um composto em presença de outras substâncias, tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da dispersão sólida. A determinação da especificidade pode ser realizada através da análise de amostra contendo esses interferentes, determinando a capacidade do método em gerar informações confiáveis na sua presença (ANVISA, 2003; ICH, 1996).

Com o objetivo de verificar a interferência de algum componente presente na solução hidroalcoólica, ou da formulação na análise para determinar o teor e a eficiência de incorporação, os parâmetros de especificidade foram estabelecidos pela comparação de resultados de amostras contaminadas (solução hidroalcoólica contendo PZQ e DEX-70 ou DEX-148) e de amostras não contaminadas (solução hidroalcoólica contendo PZQ).

### **Linearidade**

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003; ICH, 1996).

A linearidade do método foi determinada através da obtenção de uma curva analítica do PZQ em solução hidroalcoólica. Diluições, em água, com concentrações

variando de 0,2 a 1,6 mg/mL foram preparadas a partir de soluções estoques contendo álcool etílico, em triplicata.

A curva analítica foi construída relacionando a concentração de PZQ à resposta obtida por espectroscopia na região do UV, através de valores de absorbância a 263 nm correspondentes às concentrações do fármaco.

### **Precisão**

Precisão é a avaliação da proximidade das respostas obtidas quando uma série de medidas for realizada para uma mesma amostra, em idênticas condições de teste. Esta é considerada em três níveis, verificada por, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações (alta, média e baixa) em triplicata ou no mínimo de seis determinações com 100% da concentração do teste (ANVISA, 2003).

A partir da solução estoque de PZQ em álcool etílico, foram preparadas soluções de PZQ nas concentrações de 0,2; 0,6; 1,0; 1,4 e 1,6 mg/mL, correspondentes às concentrações do intervalo linear da curva analítica. Estas soluções foram analisadas por espectroscopia na região do UV e a análise foi realizada em triplicata.

### **Recuperação**

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois

determina a quantidade de fármaco recuperado no processo de preparação da amostra (ANVISA, 2003).

O teste foi realizado adicionando-se quantidades conhecidas de PZQ na solução hidroalcoólica. A quantidade de fármaco adicionada corresponde às regiões inferior, mediana e superior da curva analítica, respectivamente, 0,2, 1,0 e 1,6 mg/mL. As amostras foram analisadas por espectroscopia na região do UV.

A recuperação foi calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida de fármaco adicionada à amostra, acrescida dos intervalos de confiança, utilizando a seguinte fórmula:

$$R = \frac{C}{C_0} \times 100$$

Onde:

$C$  = média das concentrações determinadas experimentalmente;

$C_0$  = concentração teórica inicial.

### **Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)**

Para a realização desta análise foram preparadas três soluções em concentrações próximas ao limite inferior da curva analítica e avaliado o desvio padrão dos valores encontrados para que, pelos respectivos cálculos matemáticos, fosse possível determinar LD e LQ. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

O LD é determinado pela menor quantidade de fármaco presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003).

O LD foi calculado baseando-se no desvio padrão ( $\sigma$ ) e na inclinação da curva analítica expresso como:

$$LD = \frac{\sigma \times 3,3}{S}$$

Onde:

$\sigma$  = desvio padrão

S= inclinação da curva analítica.

O LQ é determinado pela menor quantidade de fármaco em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003).

O LQ foi calculado baseando-se no desvio padrão ( $\sigma$ ) e na inclinação da curva analítica expresso como:

$$LQ = \frac{\sigma \times 10}{S}$$

Onde:

$\sigma$  = desvio padrão

S= inclinação da curva analítica

#### **7.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PRAZIQUANTEL**

O teor de PZQ incorporado aos hidrogéis foi determinado adicionando 150 mg de amostra na proporção de 1:1:1 (PZQ:DEX70:DEX148), 200mg na proporção 1:1:2, 250mg na proporção 1:1:3, 200mg na proporção 1:2:1, 250mg na proporção 1:2:2, 300mg na proporção de 1:2:3, 250mg na proporção de 1:3:1, 300mg na proporção de 1:3:2 e 350mg na proporção de 1:3:3, garantindo assim que todas possuam 50 mg de PZQ. Essas quantidades de formulação foram, inicialmente, solubilizadas em 10mL álcool etílico. Em seguida, uma alíquota de 1 mL foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, e diluída em água Milli-Q. Por fim, a quantidade de PZQ solubilizada foi determinada por espectrometria UV no comprimento de onda de 263nm. As análises de todas as amostras foram realizadas em triplicata.

#### **7.5. TESTE DE SOLUBILIDADE**

A solubilidade do praziquantel incorporado aos hidrogéis foi determinada adicionando excesso de amostra em 10mL de água destilada. As amostras foram mantidas em agitação por 24 horas, em homogeneizador, à temperatura de 25 °C. Após o tempo de equilíbrio, foram centrifugadas a 3400rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi separado e utilizado para determinar a quantidade de PZQ solubilizada, por espectrometria UV,  $\lambda = 263\text{nm}$ . Cada experimento foi feito em triplicata.

## **8. RESULTADOS**

### **8.1 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA EMPREGADA PARA A DETERMINAÇÃO DO TEOR E DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA**

#### **Especificidade**

No estudo de especificidade do método para determinação do teor de fármaco, utilizou-se a solução hidroalcoólica de PZQ na concentração de 1,0 mg/mL sem interferentes, e em presença de DEX-70 ou DEX-148. Os resultados demonstraram que o método proposto é seletivo e específico, uma vez que não se observou interferência dos polímeros no comprimento de onda de maior absorção do fármaco.

#### **Linearidade**

A linearidade do método de quantificação de PZQ por espectrometria na região do UV foi determinada através da construção da curva analítica em solução hidroalcoólica, utilizando diferentes concentrações de PZQ, sendo a curva linear entre 0,2 e 1,6 mg/mL.

A regressão linear forneceu a equação da reta:

$$y = 1,1004x + 0,0049$$

$$R^2=0,9996$$

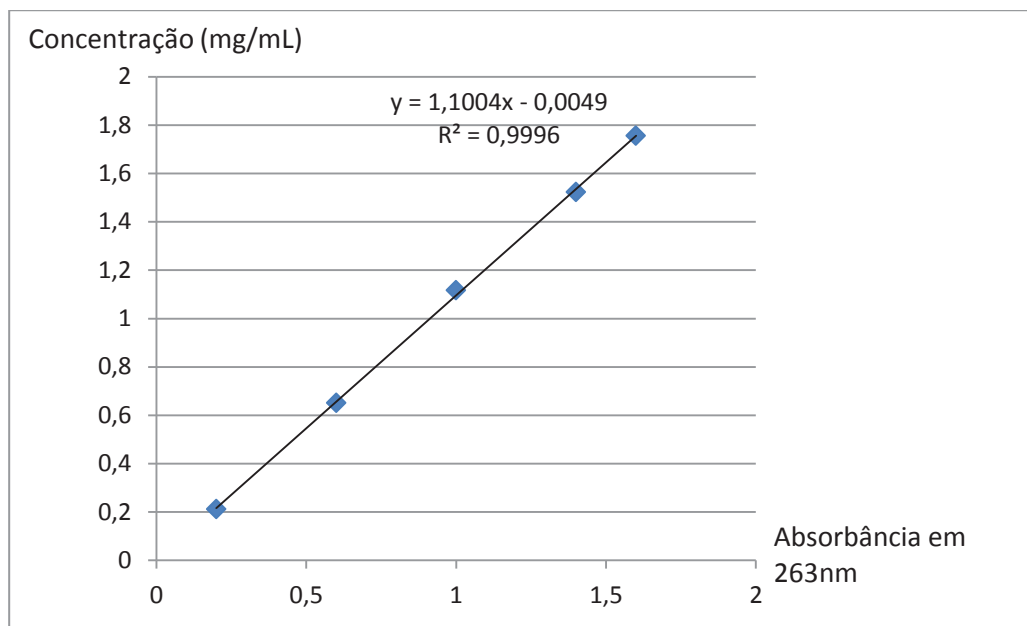


Figura 3: Curva analítica

### Precisão

A precisão foi avaliada através da análise de três níveis de concentração de PZQ: baixa (0,6 mg/mL), média (1,0 mg/mL) e alta (1,6 mg/mL) (Tabela 1).

Tabela 1: Coeficiente de variação dos valores de absorbância obtidos para o PZQ nas amostras empregadas no teste de precisão (n=3)

| Concentração<br>de PZQ<br>(mg/ml) | Absorbância em 263 nm |          |         | Media  | DP     | CV     |
|-----------------------------------|-----------------------|----------|---------|--------|--------|--------|
|                                   | N1                    | N 2      | N 3     |        |        |        |
| 0,6                               | 0,658693              | 0,65712  | 0,65096 | 0,6556 | 0,0041 | 0,6234 |
| 1,0                               | 1,114233              | 1,1559   | 1,1162  | 1,1288 | 0,0235 | 2,0827 |
| 1,6                               | 1,725433              | 1,752133 | 1,7564  | 1,7447 | 0,0168 | 0,9620 |

Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que o método proposto mostrou-se preciso para a quantificação de PZQ, obtendo-se um coeficiente de variação menor que 5% (ANVISA, 2003).

### **Exatidão**

O percentual de recuperação do fármaco é apresentado na Tabela 2. Os resultados mostram índices de recuperação adequados, dentro da faixa recomendada pela ANVISA (2003), cujo intervalo é de 80 a 120%.

Tabela 2: Percentual de recuperação de massa de fármaco das amostras  
(n = 3)

| Concentração<br>(mg/mL) | Média Final<br>(ASC) | Concentração<br>calculada | Exatidão (%) |
|-------------------------|----------------------|---------------------------|--------------|
| 0,2                     | 0,220                | 0,207                     | 103,51       |
| 0,6                     | 0,656                | 0,604                     | 100,67       |
| 1,0                     | 1,129                | 1,036                     | 103,56       |
| 1,4                     | 1,546                | 1,416                     | 101,14       |
| 1,6                     | 1,745                | 1,597                     | 99,84        |

### **Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)**

Os valores obtidos na determinação dos limites de detecção e de quantificação estão apresentados nas Tabelas 3, e mostram que o método analítico

é adequado para a quantificação de PZQ, obedecendo a faixa linear da curva analítica que foi de 0,2 a 1,6 mg/mL.

Tabela 3: Limites de Detecção e Quantificação do PZQ em 263nm (n=3)

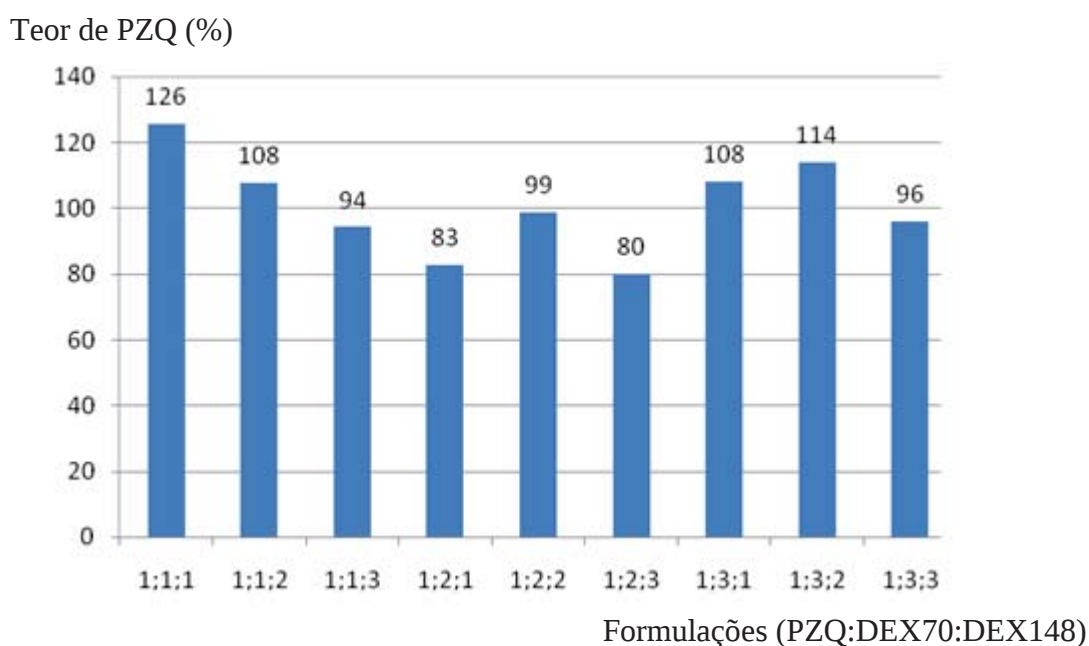
|                                    |               |
|------------------------------------|---------------|
| <b>Concentração</b>                | 0,2-1,6 mg/mL |
| <b>Inclinação as curva (a)</b>     | 1,1004        |
| <b>Intercepto (b)</b>              | 0,0049        |
| <b>Desvio padrão</b>               | 0,004366      |
| <b>Limite de Detecção (LD)</b>     | 0,013143      |
| <b>Limite de Quantificação(LQ)</b> | 0,039828      |

## 8.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PRAZIQUANTEL

Os valores obtidos nos estudos de determinação de teor de PZQ estão na Figura 5. Pode-se observar que a formulação 1:1:1 e 1:3:2 (PZQ:DEX70:DEX148), apresentaram uma porcentagem de fármaco solubilizado muito acima do incorporado experimentalmente, 126% e 114%, provavelmente causada por uma diferença na proporção de fármaco e polímeros, devido a uma possível perda de polímeros durante o processo de obtenção. Também foi notado que nas formulações 1:1:2 e 1:3:1 foram encontrados valores levemente acima do esperado, 108% em ambos, mas aceitável, levando em consideração a relação da proporção de fármaco e polímeros, uma vez que, a quantidade de fármaco que a ser pesado era de 50mg, teoricamente. Já nas demais formulações, nota-se uma quantidade adequada de fármaco solubilizado, indicando sucesso na obtenção das mesmas.

Foram selecionadas para a avaliação da capacidade de incorporação de fármacos as formulações 1:1:1; 1:1:2; 1:1:3; 1:2:1; 1:2:2 e 1:3:1 para uma melhor avaliação das mesmas e para uma nova seleção de amostras para as etapas seguintes.

Figura 4 : Teor de PZQ



### 8.3 TESTE DE SOLUBILIDADE

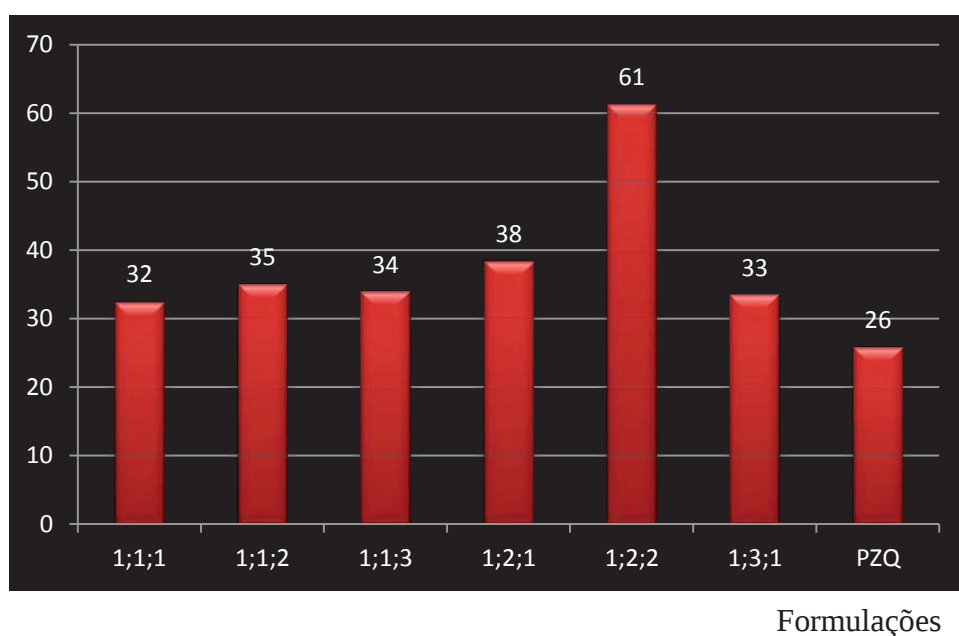
Os valores obtidos nos estudos de solubilização do PZQ estão na Figura 5. Pode-se observar que em todas as formulações houve um aumento da taxa de solubilidade, comparadas à taxa de solubilidade do praziquantel em água, que é baixa. No entanto, as formulações 1:2:2 e 1:2:1 apresentaram os melhores perfis de solubilidade.

Esse aumento, observado nas formulações, se deve ao fato de que, com o uso de um polímero hidrofílico, o princípio ativo PZQ encontra-se molecularmente

disperso, sendo que o seu perfil de dissolução será guiado pelas propriedades do carreador. Provavelmente é devido a esse fato que foi observado que, quanto maior a quantidade de dextrano (carreador) em relação à quantidade de PZQ, maior o aumento da taxa de solubilidade, pois é sabido que o dextrano tem alta solubilidade em água, e acaba influenciando o perfil de dissolução do fármaco.

Figura 5: Solubilidade do PZQ puro e nas formulações

Porcentagem de solubilização



## **9. CONCLUSÃO**

A obtenção de hidrogéis de dextrano de diferentes pesos moleculares com propriedades apropriadas para a formação de sistemas de liberação controlada foi possível, através de um método simples de ser executado e não necessitando do uso de substâncias reticulantes.

Foi possível observar que houve um aumento da solubilidade em todas as formulações, com relação ao praziquantel puro, mostrando assim a influência do carreador nas propriedades físico-químicas do fármaco.

O dextrano mostrou ser um polímero adequado para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, uma vez que, provavelmente, ele pode gerar alterações significativas nas propriedades farmacotécnicas do praziquantel, como solubilidade e dissolução.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, P., 1983. Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity. *Pharmacol. Therapeut.* 29, 129–156.

ANGELOVA, N.; HUNKELER, D. Rationalizing the design of polymeric biomaterials. **Trends Biotechnol.**, Amsterdam , v. 17, p. 409-421, 1999.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). *Resolução-RE no 899, de maio de 2003*. D.O.U CAS. 02/06/2003.

AZEVEDO, M.M.M, DURÁN, N. O que é nanobiotecnologia? Atualidades e perspectivas. Instituto de Química, Laboratório de Química Biológica, UNICAMP, 2002.

BARCELLOS I.O. *et al.* Influência do comonômero e do método de polimerização na cinética de liberação de fenobarbitona a partir de hidrogéis. Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau, 2000.

BARSBAY, M.; GÜNER, A. Miscibility of dextran and poly(ethylene glycol) in solid state: Effect of the solvent choice. **Carbohydr Polym**, v. 69, p. 214-223, 2007.

BOGNER, R.H. Bioavailability and bioequivalence of extended-release oral dosage forms. *US Pharmacist* 1997; 22 (Suppl): 3-12.

CAMPOS, F.S. **Desenvolvimento de hidrogéis de dextrano contendo praziquantel**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2009.

CASSANO, R., TROMBINO, S., MUZZALPO, R., TAVANO, L, PICCI, N. A novel dextran hydrogel linking trans-ferulic acid for the stabilization and transdermal delivery of vitamin E. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 72, p.232-238, 2009.

COVIELLO, T.; MATRICARDI, P.; MARIANECCI, C.; ALHAIQUE, F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. **J. Cont. Rel.**, v. 119, p. 5-24, 2007.

CURY, B.S.F. **Reticulação da alta amilose:** Processo de obtenção, caracterização e avaliação do desempenho em sistema de liberação prolongada de fármacos, 2006. 124f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2006.

FERREIRA, L.; GIL, M.H.; CABRITA, A.M.S.; DORDICK, J.S. Biocatalytic sythesis of highly ordered degradable dextran-based hydrogels. **Biomaterials**, v. 26, p. 4707- 4716, 2005.

GREENBERG, R.M. Are Ca<sup>2+</sup> channels targets of praziquantel action? *Int. J. Parasitol.* 35:1-9, 2005.

HAMIDI, M., AZADI, A., RAFIEI, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 60, p. 1638-1649, 2008.

HIEMSTRA, C.; AA, L.J.V.D.; ZHONG, Z.; DIJKSTRA, P.J.; FEIJEN, J. Novel in situ forming, degradable dextran hydrogels by Michael addition chemistry: synthesis, rheology, and degradation. **Macromolecules**, v. 40, p. 1165-1173, 2007.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Validation of analytical procedures: methodology.* 1996, p.1-8.

JACOBS, I.C.; MASON, N.S. Polymer delivery systems concepts, in Polymeric delivery systems: properties and applications, B.A. Charpentier, Editor, **American Chemical Society**: Washington, DC. 1993, p. 1-17.

KAPARISSIDES, C.; ALEXANDRIDOU, S.; KOTTI, K.; CHAITIDOU, S. Recent advances in novel drug delivery systems. *J. Nanotechnol. Online*, v.2, p.1-11, 2006.

KIM, S.; KIM, J.; JEON, O.; KWON, I.C.; PARK, K. Engineered polymers for advanced drug delivery. **Eur. J. Pharm. Biopharm**, v.71, p.420-430, 2009.

LIMA, A.C. **Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de praziquantel**. 2006. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2006.

LLOYD, L.L.; KENNEDY, J.F.; METHACANON, P.; PATERSON, M.; KNILL, C.J. Carbohydrate polymers as wound management aids. **Carbohydr. Polym.**, v. 37, p. 315-322, 1998.

LOPES, C. M.; LOBO J. M. S.; COSTA P.; Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, v.41, n.2, p.143-154, 2005.

**MERCK INDEX**. 14<sup>a</sup> ed. p. 1325, 2006.

PASSERINI, N., ALBERTICI, B., PERISSUTI, B., RODRIGUEZ, L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. **Int. J. Pharm.** v. 318, p. 92-102, 2006.

PEPPAS, N.A., BURES, P., LEOBANDUNG, W., ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** v.50, p.27-46, 2000.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery, **Current Opinion in Chemical Biology**, London, v. 5, p. 447-451, 2001.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R.J. Farmacologia, 6ª edição, vol.2, p. 712-715, 2007.

SIMONSEN, L.; HOVGAARD, L.; MORTENSEN, P.B.; BRØNDSTED, H. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery. V. Degradation in human intestinal incubation models. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 3, p. 329-337, 1995.

SOUZA, A.L.R. Avaliação do efeito do praziquantel veiculado em dispersões lipídicas no tratamento de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2008.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP 31), The National Formulary (NF 23). By authority of the United States Pharmacopeial Convention. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, Inc, 2008 p. 3056-3057.

ZHU, Y. Properties of polymeric drug delivery systems prepared by hot-melt extrusion. 2002. Tese (Doutorado)- Faculty of the Graduate School of the University of Texas, Austin, 2002.