

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE**

**JULIO CESAR COLPO DA SILVEIRA**

**PROPOSTA DE UTILIZAÇÃO DO VITROCERÂMICO ANORTITA COMO UM**  
**SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS**

**CURITIBA**

**2007**

**JULIO CESAR COLPO DA SILVEIRA**

**PROPOSTA DE UTILIZAÇÃO DO VITROCERÂMICO ANORTITA COMO UM  
SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Luci Fernandes

Co-orientador: Prof. Dr. Josué Bruginski de Paula

**CURITIBA**

**2007**

C721p  
2007 Colpo, Julio Cesar da Silveira  
Proposta de utilização do vitrocerâmico Anortita como um sistema de liberação de fármacos / Julio Cesar Colpo da Silveira ; orientador, Beatriz Luci Fernandes ; co-orientador, Josuê Bruginski de Paula. – 2007.  
vi, 68 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2007  
Inclui bibliografia

1. Farmacocinética. 2. Cerâmica. 3. Vidro. 4. Biocompatibilidade. I. Fernandes, Beatriz Luci. II. Paula, Josuê Bruginski. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde. IV. Título.

CDD 21. ed. – 615.7



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde

**ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE  
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 047**

Aos 29 dias do mês de janeiro de 2007 realizou-se a sessão pública de defesa da dissertação **“Proposta de Utilização do Vitrocerâmico Anortita como Sistema de Liberação Controlada de Fármacos”**, apresentada por **Julio Cesar Colpo** como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia em Saúde, – Área de Concentração – Bioengenharia perante uma Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Beatriz Luci Fernandes,  
PUCPR (Orientadora)

  
assinatura

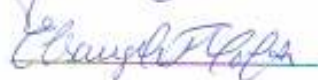
APROVADO  
parecer (aprov./reprov.)

Prof. Dr. Josué Bruginski de Paula,  
PUCPR (Co-Orientador)



Aprovado

Prof. Dr. Etney Neves,  
(IGCB)



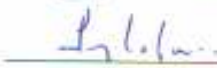
APROVADO

Prof. Dr. Elisângela Ferretti Manfira,  
(PUCPR)



APROVADO

Prof. Dr. Percy Nohama,  
(PUCPR)



APROVADO

Conforme as normas regimentais do PPGTS e da PUCPR, o trabalho apresentado foi considerado APROVADO (aprovado/reprovado), segundo avaliação da maioria dos membros desta Banca Examinadora. Este resultado está condicionado ao cumprimento integral das solicitações da Banca Examinadora registradas no Livro de Defesas do Programa.

Prof. Dr. Laudelino Cordeiro Bastos,  
Diretor do PPGTS PUCPR





## DEDICATÓRIA

**Dedico:**

*Ao ROBERTO MOELLMANN GONÇALVES BARROS, meu*

AMIGO, COMPANHEIRO e IRMÃO que nos deixou de forma trágica, dramática e inesperada. Um homem simples, humilde, genioso, caridoso, inteligente, vaidoso, alegre, a musicalidade faz parte de sua alma, comprometido com seu trabalho; tinha dificuldades para expressar seus sentimentos, mas amava.

*Melhor* pessoa com quem compartilhei 9 anos de nossas vidas. Acompanhou

toda minha trajetória acadêmica; com ele dividi as incertezas e as vitórias. Auxiliou-me diante as dificuldades, através de suas críticas, e também quando enchia o peito de orgulho ao ver um objetivo que eu conquistava.

*Oh* saudade...! ...Esta não é a melhor palavra para expressar meus

sentimentos, entretanto posso te dizer, meu querido, que a lembrança de um abraço é sinônimo de segurança e conforto.

*Realmente* espero que possamos nos encontrar em algum lugar para um longo

e fraterno abraço!

## **AGRADECIMENTOS**

### **Agradeço:**

A Deus e todas as forças da natureza;

Aos meus queridos mestres e especialmente minha orientadora,

Aos meus colegas,

Ao amor, amizade, simplicidade, humildade, respeito, generosidade, fraternidade e aos puxões de orelha;

A UNICAMP, aos colegas do Laboratório de Biomembranas, e em especial a Dr<sup>a</sup> Daniele Araújo; e Dr<sup>a</sup> Eneida de Paula.

Ao Instituto Grade de Ciências Básicas na pessoa do Dr Etney Neves e demais colaboradores;

A Fundação Araucária, que viabilizou recursos financeiros para a realização deste estudo - Processo (P- 6600) 35/2005;

A minha amiga Sabrina Mendes pela correção gramatical;

Aos meu amigos Aninha e Léo por toda força, amizade e inglês;

A todas as pessoas que encontrei em minha estrada, aos que me acompanharam, aos que me acompanham e aqueles que simplesmente passaram.

**Obrigado!**

## RESUMO

O vitrocerâmico de Anortita é um material biocompatível que apresenta propriedades de materiais inteligentes, pois sofre degradação de acordo com a variação do pH do meio em que se encontra. Essa característica faz com que a Anortita seja de especial interesse em aplicações clínicas onde se deseja que o biomaterial degrade quando em contato com os fluidos biológicos, como em implantes temporários. A aplicação da Anortita como veículo para fármacos constitui uma nova tecnologia que poderá possibilitar a liberação constante de medicamentos, mantendo um índice terapêutico adequado e em níveis desejados, colaborando com a adesão e eficácia no tratamento de doenças, a exemplo da Doença de Parkinson, um processo neurodegenerativo que acomete, com maior frequência, pessoas idosas, cujo tratamento é realizado com a administração oral do fármaco levodopa em doses que variam de acordo com o tempo e gravidade da doença. A Anortita possui características compatíveis a sistemas reservatórios e é capaz de armazenar uma substância ou outros elementos de interesse à saúde no interior de suas câmaras, tendo esta peculiaridade permitido que fosse explorada a viabilidade do vitrocerâmico ser utilizado como um transportador ou veículo de entrega de fármacos. Para tanto, cinco cápsulas de Anortita foram fabricadas, utilizando-se moldes em aço inoxidável. O processo de fabricação das cápsulas seguiu etapas normais de fabricação de vitrocerâmicos, como mistura de componentes em razões pré-definidas, aquecimento à fusão, envasamento e cristalização. As cápsulas foram preenchidas com o fármaco teste (Prolopa® HBS – Levodopa + Benzerazida) e submetidas ao ensaio *in vitro*, que constituiu na imersão das peças em soluções tampão fosfato de pH 3.5 e pH 7.4. Ao final do experimento, através da análise de massa, observou-se que as cápsulas perderam massa, ou seja, houve degradação do material. A leitura da absorbância mostrou que o fármaco teste, acondicionado no interior das cápsulas de anortita foi liberado, apontando a viabilidade da realização de pesquisas que venham validar esse biomaterial como um sistema de liberação de fármacos.

**Descritores:** cerâmica, vidro, materiais biocompatíveis, farmacocinética.

## ABSTRACT

Anortita glass-ceramic is a biocompatible material that shows intelligent material properties, since its degradation occurs depending on pH variation. This characteristic is particularly interesting when regarding clinical applications in which the material should start degradation when in contact with biological fluids, like in temporary implants. The use of Anortita as a drug vehicle constitutes a new technology that may allow constant drug liberation, keeping an adequate therapeutical index, along with desired drug levels, thus facilitating treatment participation and efficacy, for example, when dealing with Parkinson's disease, a neurodegenerative process that affects most frequently elder people, and which treatment comprises oral administration of levodopa in doses that vary depending on disease duration and gravity. Anortita shows characteristics that are compatible with drug reservoir systems, and is able to store substances or other health-related materials inside its chambers, thus allowing the glass-ceramic to be used as drug transport or vehicle. In order to demonstrate that, five Anortita capsules were manufactured, using stainless steel casts. Capsule fabrication followed regular glass-ceramic manufacturing steps, such as component mixture in predefined proportions, heating until fusion, encapsulating and cristalization. Capsules were filled with the testing drug (Prolopa® HBS – Levodopa + Benzerazida) and underwent an *in vitro* essay, in which the pieces suffered immersion in tampon phosphate solution with pH 3.5 and 7.4. After this stage, mass analysis showed that the capsules lost mass, that is, material degradation occurred. Absorbance reading showed that the testing drug previously stored inside the capsules was released, pointing to the viability of further research trying to validate this biomaterial as a drug-release system.

**Descritores:** ceramics, glass, biocompatible materials, pharmacocinetics

## SUMÁRIO

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| INDICE DE FIGURAS.....                                    | 2  |
| INDICE DE TABELAS.....                                    | 3  |
| 1 INTRODUÇÃO.....                                         | 4  |
| 2 OBJETIVOS.....                                          | 7  |
| 2.1 Objetivo Geral .....                                  | 7  |
| 2.2 Objetivos Específicos .....                           | 7  |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA.....                              | 8  |
| 3.1 Biomateriais e sua utilização em saúde .....          | 8  |
| 3.2 Materiais cerâmicos .....                             | 12 |
| 3.2.1 Vidros e vitrocerâmicos.....                        | 14 |
| 3.3 Materiais Cerâmicos como Biomateriais .....           | 17 |
| 3.4 Considerações em Farmacologia.....                    | 19 |
| 3.4.1 Testes de Dissolução e Bioensaio .....              | 19 |
| 3.4.2 Índice Terapêutico .....                            | 21 |
| 3.5 Sistemas de liberação de fármacos .....               | 23 |
| 3.5.1 Lipossomas.....                                     | 28 |
| 3.5.2 Quitosana .....                                     | 30 |
| 3.5.3 Hidrogel .....                                      | 31 |
| 3.5.4 Compósitos hidroxiapatita-colágeno .....            | 32 |
| 3.5.5 Ciclodextrinas .....                                | 33 |
| 3.6 Fármaco Teste .....                                   | 35 |
| 3.6.1 Levodopa.....                                       | 35 |
| 3.6.2 Doença de Parkinson (DP) .....                      | 37 |
| 4 METODOLOGIA .....                                       | 39 |
| 4.1 Cápsulas de Anortita .....                            | 39 |
| 4.1.1 Projeto das cápsulas.....                           | 39 |
| 4.1.2 Confeção das cápsulas.....                          | 39 |
| 4.2 Estudo <i>in vitro</i> .....                          | 45 |
| 4.2.1 Soluções e fármacos utilizados .....                | 45 |
| 4.2.2 Teste de dissolução .....                           | 46 |
| 4.2.2.1 Preparação e imersão das cápsulas .....           | 46 |
| 4.2.3 Avaliação da pervidade da cápsula de anortita ..... | 53 |
| 5 RESULTADOS .....                                        | 54 |
| 5.1 Análise da massa .....                                | 54 |
| 5.2 Análise da liberação de Prolopa® HBS.....             | 56 |
| 6 DISCUSSÃO.....                                          | 58 |
| 7 CONCLUSÕES.....                                         | 62 |
| 8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....                  | 63 |
| 9 BIBLIOGRAFIA.....                                       | 64 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Exemplo de utilização de biomateriais. ....                                                                                   | 9  |
| Figura 2 - Composição dos feldspatos com base no diagrama .....                                                                          | 16 |
| Figura 3 - Índice terapêutico.....                                                                                                       | 23 |
| Figura 4 - Esquema mostrando a liberação de medicamentos através do sistema reservatório. ....                                           | 26 |
| Figura 5 - Liberação de medicamentos através da erosão superficial do biomaterial (a) e através da erosão volumétrica do mesmo (b). .... | 27 |
| Figura 6 - Ilustração da estrutura presente no lipossoma. ....                                                                           | 28 |
| Figura 7 - Estrutura da quitosana.....                                                                                                   | 30 |
| Figura 8 - Estrutura em nanoescala de um hidrogel. ....                                                                                  | 31 |
| Figura 9 - Microestrutura mostrando fibras de colágeno em uma matriz de hidroxiapatita.....                                              | 33 |
| Figura 10 - Representação da estrutura da ciclodextrina $\alpha$ , $\beta$ e $\gamma$ .. ....                                            | 34 |
| Figura 11 - Estrutura química da levodopa.....                                                                                           | 36 |
| Figura 12 - Cadinhos de alumina para fusão do vidro. ....                                                                                | 40 |
| Figura 13 - Cadinho de alumina contendo a mistura de pós a ser fundida. ....                                                             | 40 |
| Figura 14 - Forno Jung® de 1600°C utilizado para fusão da matéria prima. ....                                                            | 41 |
| Figura 15 - Detalhe do molde em aço inoxidável.....                                                                                      | 42 |
| Figura 16 - Abertura do forno e retirada dos cadinhos com o material.....                                                                | 42 |
| Figura 17 - Vazamento do material no molde de aço .....                                                                                  | 42 |
| Figura 18 - Forno EDG® 1800 .....                                                                                                        | 43 |
| Figura 19 - Metade de uma cápsula no estado vítreo e sem acabamento. ....                                                                | 43 |
| Figura 20 - Metades das cápsulas de no estado vítreo, com acabamento. ....                                                               | 44 |
| Figura 21 - Forno Jung®.....                                                                                                             | 44 |
| Figura 22 - Metades de cápsulas com acabamento .....                                                                                     | 45 |
| Figura 23 - Balança analítica.....                                                                                                       | 47 |
| Figura 24 - Metade de uma cápsula de Anortita preenchida com Prolopa® HBS .....                                                          | 48 |
| Figura 25 - Cápsulas de anortita .....                                                                                                   | 48 |
| Figura 26 - Cápsula de Anortita vedada com silicone incolor.....                                                                         | 48 |
| Figura 27 - Cápsulas de Anortita prontas para o ensaio <i>in vitro</i> . ....                                                            | 49 |
| Figura 28 - Solução tampão sendo preparada com uso do PHmetro Onda®, ....                                                                | 50 |
| Figura 29 - Cápsulas de Anortita contendo Prolopa® HBS suspensas em solução tampão sob agitação constante. ....                          | 50 |
| Figura 30 - Espectrofotômetro Beckman DU-70®.....                                                                                        | 51 |

## INDICE DE TABELAS

|                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Diferença de massa das cápsulas de Anortita antes da imersão. ....                                                 | 54 |
| Tabela 2 - Diferença de massa registrada 24h após imersão, referente a cápsula de número 3. ....                              | 55 |
| Tabela 3 - Diferenças de massa das cápsulas vazias e secas entre o início (anterior a imersão) e o final do experimento. .... | 56 |
| Tabela 4 - Valores da absorbância. ....                                                                                       | 57 |
| Tabela 5 - Resultado da liberação de Prolopa <sup>®</sup> HBS.....                                                            | 57 |

## 1 INTRODUÇÃO

Algumas doenças necessitam de um tratamento contínuo e de longo prazo, requerendo constância na manutenção do índice terapêutico no organismo, ou seja, é necessário que o nível plasmático ativo do fármaco mantenha-se constante. Este é o caso de alguns portadores de Diabetes, Artrite Reumatóide Ativa ou Doença de Parkinson (DP).

As principais queixas de pacientes tratados com medicamentos que requerem intervenções constantes através de injeções ou de via oral estão pautadas nas limitações, inconveniências e transtornos durante os procedimentos para a administração do medicamento. Além desses inconvenientes, o medicamento pode ser contaminado, aplicado de forma errônea, acondicionado de forma inadequada ou apresentar dificuldades na medida da dosagem correta. Qualquer erro poderá inviabilizar o consumo do medicamento e causar efeitos indesejáveis, interferindo na eficácia do tratamento.

A ocorrência de problemas relacionados com a administração sistêmica de fármacos como a biodisponibilidade, a distribuição no organismo, a reduzida seletividade, a necessidade de altas doses para a obtenção de níveis adequados do fármaco em locais específicos, a toxicidade e os efeitos colaterais indesejáveis, têm levado ao desenvolvimento de sistemas capazes de direcionar o fármaco para sítios específicos no organismo (SILVA, 2001).

Portanto, o desenvolvimento de dispositivos implantáveis para a liberação controlada de fármacos a fim de se manter o índice terapêutico constante, evitando níveis tóxicos ou não efetivos para o organismo, é de grande interesse na área da saúde (JOSUÉ, 2000).

Os avanços tecnológicos, nas últimas décadas, têm possibilitado o desenvolvimento de sistemas que funcionam como veículos ou transportadores para entrega ou liberação de um fármaco em um determinado órgão ou sítio do organismo. Tais sistemas são desenvolvidos através da confecção de dispositivos biocompatíveis, biodegradáveis ou não, utilizando-se, como matéria prima, materiais poliméricos, cerâmicos, vitrocerâmicos ou uma composição desses.

A incorporação de fármacos em biomateriais biodegradáveis apresenta a vantagem de liberar a droga diretamente no sítio desejado e em concentrações pré-determinadas, mantendo o índice terapêutico estável durante um período conveniente, ou seja, o fármaco é liberado de acordo com o índice de degradação do biomaterial, evitando os possíveis inconvenientes advindos dos sistemas convencionais de administração de medicamentos (OGAWA e PEPLIS, 2002).

Os medicamentos encapsulados ou misturados aos constituintes do dispositivo implantado perduram por vários dias ou meses e podem ser ativados em diferentes regiões do corpo (RATNER, 1996; SUPERSAXO, 1993).

Dentre os biomateriais biodegradáveis, destaca-se o vitrocerâmico Anortita ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ), material utilizado neste estudo, constituída por minerais

biocompatíveis e cujos cristais são especialmente vulneráveis em meio ácido. A Anortita é, portanto, de especial interesse em aplicações clínicas onde se deseja que o material sofra degradação em contato com os fluidos biológicos. (CAVALHEIRO, 2005).

Devido a essas características, a Anortita foi analisada, no presente trabalho, como material na confecção de veículo para sistema de liberação controlada de fármaco.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar, por meio de ensaio *in vitro*, a viabilidade da aplicação do vitrocerâmico Anortita em sistema de liberação de fármacos.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- 1- Fabricar cápsulas em vitrocerâmico Anortita;
- 2- Avaliar a degradação das cápsulas de Anortita em ensaio *in vitro*;
- 3- Analisar, através de ensaio *in vitro*, a capacidade das cápsulas de Anortita de liberar o fármaco teste em solução tampão com pH 3,5 e pH 7,4;
- 4- Quantificar a liberação do fármaco teste no ensaio *in vitro*.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1 Biomateriais e sua utilização em saúde**

Os biomateriais são definidos como compostos ou substâncias de origem sintética ou natural, capazes de reproduzir algumas propriedades da matéria viva que deixou ou está limitada de exercer sua função. Podem servir como veículo, matriz ou suporte ou ainda como estimulador para o crescimento de novos tecidos (WILLIAM, 1987).

Alguns autores definem biomateriais como uma substância ou combinação de duas ou mais substâncias que podem ser utilizadas de forma transitória ou permanente para melhorar, aumentar ou substituir parcial ou totalmente os tecidos ou órgãos dos seres vivos (PARK, 1984; SANTOS *et al.*, 1999 e MORAES *et al.*, 2004).

Os biomateriais podem agir de modo contínuo ou intermitente, entrando em contato com fluidos corpóreos sem que sejam rejeitados pelo organismo (PARK, 1979).

Quanto à sua natureza, podem ser classificados em sintéticos (polietileno, politetrafluoretilenos, acrilatos, silicones, malhas de polímeros, vidros bioativos e adesivos tissulares) ou naturais (osso, colágeno, córnea, cartilagem) (FRANCA *et al.*, 2005).

Sintéticos ou naturais todos os biomateriais utilizados em implantes devem ser tolerados pelo organismo hospedeiro. À exceção do material

autólogo, todos os outros provocam, em maior ou menor grau, alguma resposta imunológica reacional (FRANCA *et al.*, 2005). Ainda, segundo este autor, os trabalhos com materiais biocompatíveis procuram desenvolver materiais que possam substituir ou auxiliar na função e desempenho dos tecidos humanos sem que desencadeiem distúrbios imuno-histoquímico nocivos, e também, que sejam capazes de interagir com o tecido hospedeiro, e cumprir com as funções destes tecido ou órgão.

Biomateriais são utilizados em diversas áreas da saúde, como em próteses ortopédicas e cardiológicas, em órgãos artificiais, em materiais para a reparação e sustentação de tecidos e também como sistemas de liberação de drogas ou fármacos (FOLKMAN, 1990). Exemplos de aplicações ao longo do corpo humano estão ilustrados na Figura 1.

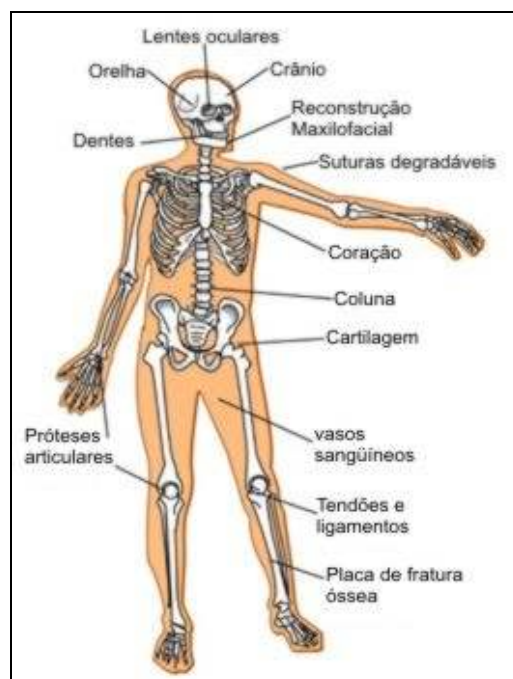


Figura 1 – Exemplo de utilização de biomateriais (adaptado de MAYES, 2004).

Para se optar pela utilização de um biomaterial, é necessário analisar cuidadosamente um conjunto de fenômenos como a resposta do organismo à presença do material e o efeito do material sobre o sistema biológico (PEREIRA, *et al.*, 1999).

A interação entre o tecido e o material implantado depende do tipo do material, o qual pode ser classificado como tóxico, não-tóxico ou bioinerte, bioativo e biodegradável (HENCH, 1991).

O desenvolvimento de materiais considerados bioativos e biodegradáveis vem ganhando muito interesse, pois substituem tecidos traumatizados e também propiciam a recuperação do tecido danificado, agindo junto ao metabolismo intra e extracelular, o qual é responsável pela reprodução celular e crescimento tecidual (PEREIRA *et al.*, 1999).

Na implantação de materiais inertes no corpo, como o silicone, o poli (metacrilato de metila), o ouro e a platina, ocorre a formação, ao redor do implante, de uma camada fibrosa fina, a qual impede a adesão entre o implante e o tecido receptor. Entretanto, esta adesão é de fundamental importância para implantes que objetivam substituir partes do corpo que exerçam funções estruturais (SILVA Jr. e OREFICE, 2001).

O conceito de bioatividade deve ser entendido “como a capacidade dos materiais de interagir com os tecidos vivos de tal modo a estimular processos físico-químicos inerentes a sistemas biológicos capazes de permitir a integração do biomaterial no ambiente receptor” (SILVA Jr. e OREFICE, 2001, p.110).

Um grande desafio dos pesquisadores é a obtenção de biomateriais que

substituam temporariamente o tecido danificado até que o mesmo se regenere. O material ideal para esta função deve ser biodegradável e deve estimular o crescimento do tecido, assim como possuir uma cinética de degradação de suas propriedades mecânicas compatíveis com a cinética de reparo tecidual. Desse modo, o implante será progressivamente substituído pelo novo tecido (PEREIRA *et al*, 1999).

Portanto, o uso de implantes requer o conhecimento de seus efeitos na interface implante-hospedeiro, pois todos os biomateriais, mesmo aqueles considerados inertes, atóxicos e não imunogênicos desencadeiam uma seqüência idêntica de eventos, diferenciando-se apenas quanto a intensidade desta seqüência (TANG; EATON, 1995).

Durante o processo de cicatrização na presença de um biomaterial, o tecido danificado evoca uma seqüência de reações inflamatórias sempre que existe um corpo estranho envolvido como, por exemplo, uma prótese. O conjunto dessas reações é denominado “reação ao corpo estranho”. Essa reação terá duração e intensidade dependente da região anatômica onde se localiza o implante (RATNER, *et al.*, 1996).

Normalmente o pH do fluido extracelular é 7,4, porém, durante atividade metabólica onde as células estão saturadas com dióxido de carbono, o pH pode chegar pouco abaixo de 6.0. Em processos de reparação, durante as ações dos macrófagos, o pH pode variar entre 3,5 e 4,0 (GUYTON, 2002). Os materiais implantados, incluindo os cerâmicos, estão expostos a essas variações do pH.

A bioatividade dos materiais pode ser avaliada *in vivo* e *in vitro*. Nos

ensaios *in vitro* são evidenciadas algumas das reações características da bioatividade de materiais. Esses ensaios são importantes para se estudar os mecanismos que levam à interação dos tecidos vivos com os materiais bioativos (SILVA JÚNIOR; OREFICE, 2001).

A Organização Internacional de Padronização (International Standard Organization) exige que o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em seres vivos deve ser o ensaio de citotoxicidade *in vitro*, seguindo a norma ISO 10993. Somente depois de comprovada a não toxicidade é que o estudo da biocompatibilidade do material deve ter continuidade com os ensaios em animais de laboratório, ou seja, ensaios *in vivo* (ROGERO *et al.*, 2003).

### **3.2 Materiais cerâmicos**

Os materiais cerâmicos são compostos inorgânicos, constituídos por elementos metálicos e não metálicos essencialmente ligados entre si através de ligações químicas iônicas e/ou covalentes. São oriundos de variadas composições químicas, desde os compostos mais simples até as misturas complexas de várias fases ligadas entre si e constituem uma extensa classe de materiais, incluindo os vidros e os vitrocerâmicos.

Esses materiais são geralmente duros, frágeis, bons isolantes térmicos e elétricos, possuem elevada temperatura de fusão e grande estabilidade química (SMITH, 1998).

O processamento dos produtos cerâmicos ocorre por compactação de pós ou grânulos, moldando peças na forma pretendida, as quais são, posteriormente, submetidas ao aquecimento à alta temperatura, a fim de proporcionar a fusão dos elementos, fornecendo a resistência mecânica desejada. As três etapas principais do processamento são: preparação do pó, conformação e queima (SMITH, 1998 e OREFICE *et al.*, 2006).

Para a fabricação de vidros, a mistura de pós é aquecida até apresentar uma viscosidade suficiente para ser vazada em um molde e, em seguida, a peça é resfriada de forma controlada. Os vitrocerâmicos são fabricados a partir do produto vítreo que sofre um tratamento térmico, durante o qual, ocorre a cristalização controlada, resultando em um produto constituído de uma ou mais fases cristalinas dispersas em uma matriz vítrea (SMITH, 1998).

A confecção de produtos para aplicações biomédicas exige a escolha de matérias-primas de elevada pureza. A composição química, o tamanho das partículas e a distribuição do tamanho são parâmetros importantes para assegurar a qualidade desses produtos, visto que afetam tanto o processamento como a qualidade da peça obtida, em termos de resistência mecânica e acabamento (OREFICE *et al.*, 2006).

Certas composições de materiais cerâmicos, vidros e vitrocerâmicos têm mostrado tendência à aderência ao tecido ósseo e, neste caso, são chamados de cerâmicos bioativos. A característica comum entre esses materiais é a modificação da cinética superficial com o tempo de implantação, formando uma camada de hidroxiapatita carbonatada, que promove a ligação com o osso

(RATNER *et al*, 1996).

### 3.2.1 Vidros e vitrocerâmicos

Os vidros podem ser materiais cerâmicos, produtos da fusão de elementos químicos inorgânicos ou orgânicos que são arrefecidos até se tornarem sólidos e rígidos, sem cristalização. Uma característica importante dos vidros é que eles possuem uma estrutura não cristalina ou amorfa (SMITH, 1998).

Os vitrocerâmicos possuem diversas propriedades desejáveis, quando comparados aos vidros. O seu coeficiente de expansão térmica, por exemplo, é muito menor. A resistência à tração pode ser aumentada e possuem boa resistência a riscos e ao desgaste (PARK e LAKES, 1992).

Do ponto de vista da composição química da fase cristalina principal, o sistema Alumino Silicato de Cálcio ( $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-CaO}$ ) pode ser considerado como um dos mais importantes para a obtenção de materiais vitrocerâmicos (STRNAD, 1986). Uma fase possível nesse sistema é a Anortita, sendo que os agentes nucleantes usados neste grupo de materiais incluem óxido de titânio ou fases ricas deste elemento (STRNAD, 1986).

Os vidros de partida cristalizam entre 800°C a 1000°C e a fase cristalina total ocorre entre 60 e 70% do volume (cristais de comprimento médio de 1µm). Acima de 800°C ocorre a separação da fase líquida e a precipitação de soluções sólidas, as quais permitem a nucleação das fases cristalinas principais, tais

como Pseudovolastonita, Volastonita ou Anortita (STRNAD, 1986).

Os vidros do sistema  $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-CaO}$  apresentam uma notável tendência ao desenvolvimento da cristalização superficial. Entretanto, o uso de um agente nucleante adequado, em elevada quantidade, favorece intensamente a nucleação (STRNAD, 1986).

Neste contexto, os vitrocerâmicos podem ser divididos, de forma simplificada, em dois grandes grupos: não silicatos e silicatos. Esses grupos, por sua vez, podem ser classificados de acordo com a sua composição química e, de forma mais apropriada, de acordo com o ânion dominante em sua estrutura (KLEIN; HURLBUT, 1993).

Os não silicatos são divididos em haletos (ânions F, Cl, Br e I dominantes), hidróxidos (ânion OH dominante), carbonatos (ânion  $\text{CO}_3^{2-}$  dominante), entre outros. Já os silicatos podem ser subdivididos de acordo com sua estrutura cristalina, sendo os feldspatos, os mais abundantes e cuja variação em composição: Ortoclásio ( $\text{KAlSi}_3\text{O}_8$ ), Albita ( $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ) e Anortita ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ) (KLEIN; HURLBUT, 1993) é representada em um diagrama ilustrado pela Figura 2.

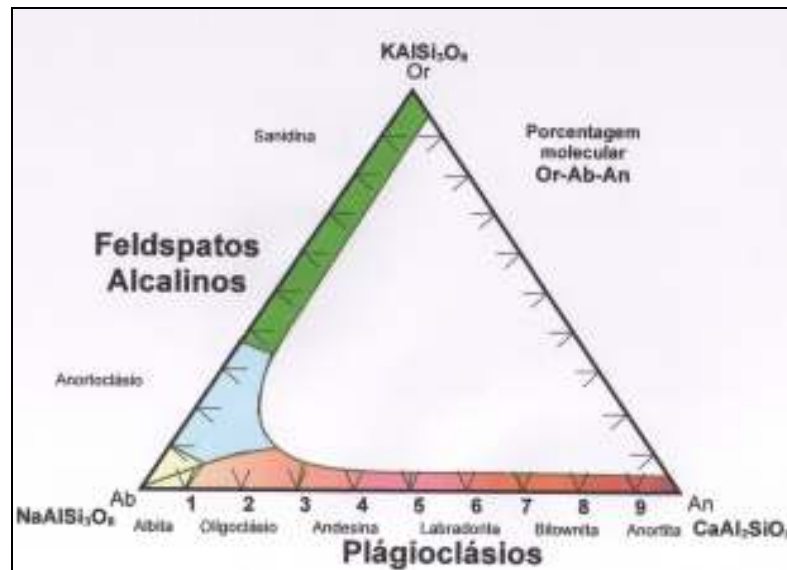


Figura 2 – Composição dos feldspatos com base no diagrama ortoclásio-albita-anortita (KLEIN & HURLBUT, 1993).

O vitrocerâmico Anortita (FERNANDES *et al.*, 2003), biomaterial proposto para este projeto, é confeccionado através da fusão de matérias primas puras que contêm óxidos de silício, alumínio e cálcio, em porcentagens definidas para a formação de vidros e subsequente cristalização controlada. Este vitrocerâmico apresenta características de material inteligente.

Materiais inteligentes podem ser definidos como materiais que respondem às mudanças ambientais, respeitando as condições ótimas impostas pelo ambiente e manifestando suas funções de acordo com essas mudanças (UHRIG; TSOUKALAS, 1997), ou seja, suas funções são dependentes do ambiente.

A anortita explora essa característica de material inteligente, pois é capaz de degradar-se em pH alcalino e ácido. Essa característica faz com que este material tenha aplicações interessantes na engenharia e especificamente para a bioengenharia (NEVES, 2002; CAVALHEIRO, 2005).

### 3.3 Materiais Cerâmicos como Biomateriais

Os materiais cerâmicos são usados pelos seres humanos há milhares de anos. Entretanto, a partir da segunda metade do século XX, com o avanço tecnológico, foi possível estudar a aplicação desses materiais como implantes em seres humanos, aumentando ou substituindo várias partes do corpo, particularmente os ossos. Portanto, os cerâmicos usados para fins de implante são classificados como biomateriais e denominados de biocerâmicos (BILLOTTE, 2000).

A ligação com o osso foi primeiro demonstrada para uma faixa de composição de vidros bioativos contendo  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$  e  $\text{CaO}$ . A fórmula chamada de 45S5 (45% em massa de  $\text{SiO}_2$ , sendo que o “Si” é o formador da rede cristalina) é bastante comum entre os cerâmicos bioativos (RATNER *et al.*, 1996).

A aplicação de cerâmicos biodegradáveis sintéticos como substituto de ossos ocorreu a partir de 1969. Este tipo de material cerâmico degrada na região do implante, sendo substituído por tecido endógeno. A taxa de degradação varia de acordo com as características de cada material (BILLOTTE, 2000).

Grande parte dos materiais cerâmicos usados para implante são bioativos, os quais interagem com os tecidos vivos provocando reações favoráveis à sua aplicação como fixação biológica, biocolonização, regeneração de tecidos e biodegradação (PEREIRA *et al.*, 1999). Este comportamento demonstra a alta bioatividade desses materiais.

Para que um material cerâmico seja classificado como biomaterial ou biocerâmico, necessita apresentar as seguintes propriedades: não ser citotóxico, não ser carcinogênico, não ser alergênico, não causar reações inflamatórias, devendo ser ainda, biocompatível e biofuncional para o hospedeiro (BILLOTTE, 2000).

Com o objetivo de se atingir a fabricação de biocerâmicos com as propriedades desejadas, muitos pesquisadores estão investigando técnicas de manufaturas antigas e desenvolvendo novas. As técnicas utilizadas dependem da finalidade de aplicação do biomaterial, desenvolvendo materiais mais duros, mais ou menos porosos ou de baixa resistência, materiais com longa duração, permanente ou de vida curta e em formatos desejados. A porosidade, por exemplo, é um fator importante para o crescimento e integração de um tecido no biocerâmico implantado com função estrutural, principalmente se esse material for um biocerâmico inerte (BILLOTTE, 2000).

Em sistemas de liberação de drogas, cerâmicos a base de fosfato de cálcio estão sendo muito pesquisados, porém, em muitos casos as fases de estudo estão limitadas ainda à liberação *in vitro* utilizando, como fármacos, hormônios de crescimento, antibióticos e quimioterápicos (GUICHEUX, 1997; ITOKAZU, 1998a; ITOKAZU, 1998b; YAYLAOGLU, 1999; KAWANABE, 1998).

### 3.4 Considerações em Farmacologia

O desenvolvimento de novas tecnologias tem favorecido o avanço das ciências farmacêuticas, principalmente com o advento da biotecnologia que, atualmente, auxilia em importantes pesquisas no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (RANG *et al.*, 2004).

Um conceito importante envolvendo a utilização de agentes terapêuticos é a biodisponibilidade que está relacionada com a quantidade de substância absorvida e que tem acesso à circulação sistêmica (RANG *et al.*, 2004).

#### 3.4.1 Testes de Dissolução e Bioensaio

A dissolução pode ser definida como “o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo” (MARCOLONGO, 2003, p.1). O teste de dissolução é um ensaio físico destrutivo, onde o fármaco passa da forma farmacêutica intacta para a forma solúvel.

No intuito de identificar variáveis críticas sobre o biomaterial, prever os efeitos terapêuticos, escolher entre diferentes formulações, otimizá-las e realizar avaliações de risco, no caso de sistemas de liberação controlada, é necessário utilizar os testes de dissolução *in vitro*, pois constituem uma importante ferramenta de controle de qualidade.

Para fármacos no estado sólido, a taxa de dissolução é definida como “a

quantidade de fármaco que passa para a solução, por unidade de tempo, sob a interface líquido/sólido, com temperatura e composição do solvente padronizado”. (MARCOLONGO, 2003, p.9). Alguns fatores que influenciam a dissolução e os resultados do teste estão relacionados com o:

1. Fármaco e a sua formulação: solubilidade, tamanho de partículas, natureza química, forma farmacêutica, excipientes e tecnologia de fabricação;
2. Equipamento: aparato utilizado, geometria do sistema, vibração do sistema, velocidade de agitação, posição da haste, posição e método de amostragem e dispositivo para formas farmacêuticas que flutuam;
3. Meio de dissolução: volume, presença de ar e gases, concentração ácida ou alcalina (pH), evaporação do meio, temperatura, viscosidade, força iônica/pressão osmótica e tenso ativo;
4. Meio ambiente: condições de estocagem;
5. Método analítico: método de filtragem e método de análise.

A análise do perfil de dissolução *in vitro*, ou seja, a porcentagem de fármaco dissolvido em relação ao tempo decorrido, permite reconhecer a cinética do processo, quantificar o fármaco liberado num determinado período de tempo, identificar a constante de velocidade de dissolução, evidenciar a meia-vida e eficiência de dissolução e quantificar e detectar períodos de latência. Também serve de base para avaliar e comparar o desempenho de formas farmacêuticas sólidas de diferentes procedências, fornecendo parâmetros de correlação dos dados *in vivo* e *in vitro* (FERRAZ *et al.*, 1998; STORPIRTS,

1996).

O bioensaio é definido como sendo um conjunto de técnicas de “avaliação da concentração ou da potência de uma substância pela medida da resposta biológica que produz”. É utilizado na comparação das propriedades de uma ou várias substâncias em diferentes circunstâncias, ou seja, fornece dados para prever o efeito de fármacos em diversas situações clínicas. No bioensaio existem dois modelos de ensaios, o *in vitro* e o *in vivo*.

O bioensaio é também usado como medida de atividade farmacológica de substâncias novas ou quimicamente indefinidas, como investigação da função de mediadores endógenos e como medida de toxicidade e de efeitos indesejáveis em fármacos (RANG *et al.*, 2004).

#### 3.4.2 Índice Terapêutico

Acima das concentrações de uso, o medicamento produz efeitos colaterais indesejáveis e, abaixo dessas concentrações, pode tornar-se não efetivo. A diferença entre estes dois níveis é conhecida como índice terapêutico (FISCHBACH, 1998).

Utilizando-se uma dose única, o tempo de duração na qual a concentração do medicamento está acima do nível efetivo só pode ser controlado pelo aumento da dose (FISCHBACH, 1998). No entanto, este aumento da concentração do medicamento pode alcançar níveis tóxicos, levando a uma situação indesejável.

O índice terapêutico de um fármaco pode ser medido como a razão entre a dose mínima de eficiência média e, a dose máxima de tolerância média num grupo de indivíduos, ou seja, em um grupo pesquisado, seria a razão entre a dose máxima não tóxica e a dose mínima eficaz.

Existe, no entanto, uma segunda definição, que leva em consideração a variabilidade entre os indivíduos analisados, na qual o índice terapêutico é a razão entre a dose que é letal para 50% da população e, a dose que é eficaz nos outros 50%, indicando, assim, a margem de segurança na utilização de um fármaco (RANG *et al.*, 2004).

Nos sistemas mais comuns de administração de medicamentos (via intravenosa, via intramuscular e via oral), logo após a administração, o nível do medicamento aumenta rapidamente e decai exponencialmente, como mostra a Figura 3a, à medida que o medicamento é excretado ou metabolizado (JOSUÉ, 2000). Para um sistema ser considerado ideal, deve manter o índice terapêutico constante, como ilustra a Figura 3b, contribuindo, assim, com o aumento da eficiência e eficácia do tratamento (BRANNON-PEPPAS, 1997).

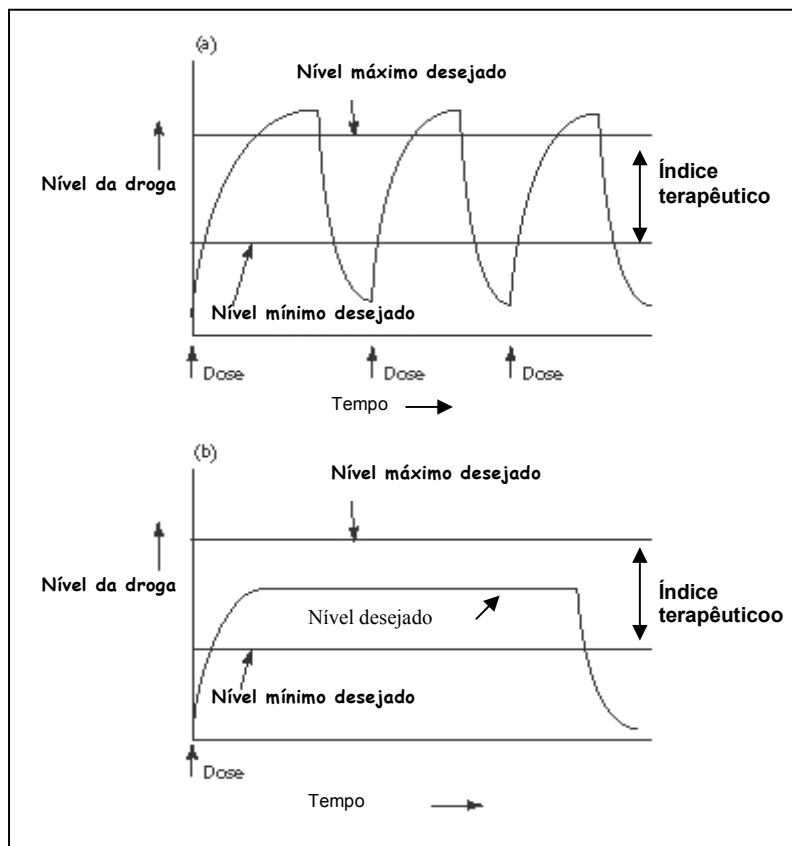


Figura 3 – Índice terapêutico com picos, sugerindo a administração das doses em tempos distintos (a). Manutenção do índice terapêutico na linha do tempo, com administração de apenas uma dose (b). (Adaptado de BRANNON-PEPPAS, 1997).

### 3.5 Sistemas de liberação de fármacos

No decorrer das últimas décadas, tem-se dedicado um grande esforço no sentido de se desenvolver um sistema capaz de transportar um composto terapêutico (drogas, em especial as dirigidas a tumores, antibióticos, enzimas, hormônios, agentes quelantes ou compostos modificadores da célula) até um alvo específico (órgão, tecido ou célula), sistema este, com finalidade de liberação continuada de fármacos (SANTOS e CASTANHO, 2002).

Algumas doenças necessitam de um tratamento contínuo de longo prazo

e requerem constância na manutenção do índice terapêutico do medicamento no organismo.

A idéia da liberação controlada de substâncias biologicamente ativas já é utilizada desde a década de 50 sendo que, anteriormente, não se conheciam materiais que pudessem liberar moléculas de alto peso molecular (peptídeos e proteínas) sem induzir inflamações. Este problema foi resolvido com o desenvolvimento de novos materiais poliméricos (OGAWA e PEPLIS, 2002).

Atualmente, os sistemas de liberação controlada são definidos como aqueles nos quais o agente ativo é liberado independente de fatores externos e com uma cinética bem estabelecida (BAKER, 1987).

O transportador é o meio inerte usado como solvente ou diluente, com o qual o agente medicinalmente ativo é formulado e ou administrado e o que direciona o fármaco é chamado de veículo.

Com o objetivo de melhorar a eficiência de distribuição de fármacos, diminuir os efeitos adversos, aumentar o índice de eficiência com administração de doses menores do que as tradicionais, mantendo um índice terapêutico mais controlado, algumas abordagens estão sendo exploradas como: as micro esferas biologicamente desgastáveis, os pró-fármacos, os conjugados de anticorpo-fármaco, o acondicionamento em lipossomas e em revestimentos, entre outros (RANG *et al.*, 2004).

A funcionalidade de tais sistemas depende do meio orgânico de contato, o qual se diferencia de paciente para paciente. Contudo, tal circunstância mostra-se como fator estimulante ao desenvolvimento de novas tecnologias que

possibilitem a liberação de medicamentos por meio de cinética previsível e reprodutível (BAKER, 1987).

Idealmente, esta tecnologia não deve ser afetada de forma significativa pelo meio externo, a fim de que suas características sejam compatíveis com o maior número possível de usuários (BAKER, 1987).

Alguns sistemas de liberação controlada oferecem algumas vantagens sobre os métodos convencionais de administração como injeções e via oral, acarretando um maior conforto ao paciente e melhor eficácia do tratamento.

Algumas destas vantagens são: a manutenção de níveis constantes da droga no organismo, implicando em uma maior eficiência de utilização do agente, ou seja, é necessário menor teor de droga para produzir efeito similar aos sistemas convencionais; a aplicação do agente diretamente no sítio de ação, produzindo altas concentrações localizadas e evitando efeitos colaterais sistêmicos, já que a droga é, na maior parte, liberada no local desejado; a menor frequência de administração do agente ativo, pois a liberação pode se dar em horas, dias, semanas, meses, de acordo com a necessidade do tratamento (OGAWA e PEPLIS, 2002).

Alguns implantes são preparados a partir de materiais biodegradáveis ou não-biodegradáveis, podendo ser de dois tipos: matriciais (ou monolíticos) e reservatórios. No sistema matricial, a droga encontra-se homogeneamente dispersa na matriz polimérica ou adsorvida na superfície desta, e sua liberação pode ocorrer por difusão, através dos poros da matriz, ou por meio de degradação ou, ainda, por uma combinação dos dois mecanismos. Caso a

velocidade de degradação do polímero seja inferior à difusão da droga pela matriz, a liberação inicial será dependente de sua difusão pelo sistema. A diferenciação pode ocorrer caso ela esteja dissolvida entre as moléculas ou dispersa no polímero. Quando se utilizam polímeros não-biodegradáveis, a liberação ocorre lentamente através de um processo de difusão pela matriz (KIMURA e OGURA, 2001; DASH e CUDWORTH, 1998).

A Figura 4 mostra, de forma esquemática, dois sistemas de liberação de medicamentos com degradação simultânea à liberação.

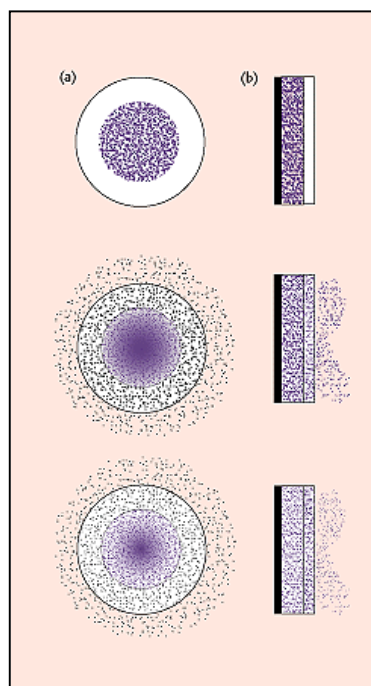


Figura 4 - Esquema mostrando a liberação de medicamentos através do sistema reservatório: (a) sistemas implantáveis ou orais, (b) sistemas transdérmicos (BRANNON-PEPPAS, 1997).

No sistema do tipo reservatório, o medicamento encontra-se disperso em uma cavidade central, envolta por uma membrana polimérica que controla a taxa

de liberação. Mudanças na natureza e espessura desta membrana promovem alterações na velocidade de liberação das drogas. No sistema reservatório, composto por polímeros não-biodegradáveis, a liberação do medicamento ocorre apenas por difusão através da membrana. (KIMURA e OGURA, 2001; DASH e CUDWORTH, 1998). Este tipo de estrutura pode ser vista no esquema mostrado na Figura 5.

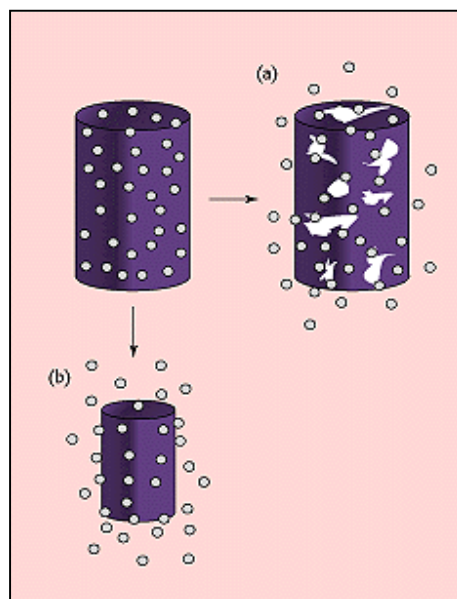


Figura 5 - Liberação de medicamentos através da erosão superficial do biomaterial (a) e através da erosão volumétrica do mesmo (b) (BRANNON-PEPPAS, 1997).

Alguns desses dispositivos chamados de sistemas reservatórios (revestimento farmacêutico), sistemas matriciais, ou como “carregadores” macromoleculares e/ou biodegradáveis (CAVALCANTI, 2004), encontram posição de destaque na pesquisa farmoquímica. Portanto, para este trabalho, percebeu-se a necessidade da busca de fontes que citassem veículos já experimentados em estudos anteriores.

### 3.5.1 Lipossomas

Os lipossomas são pequenas vesículas produzidas a partir de uma suspensão aquosa de fosfolípidos (RANG *et al.*, 2004).

Podem ser definidos como associações coloidais de lípidios anfipáticos, que se organizam espontaneamente em estruturas fechadas tipo concha esférica ou bicamadas concêntricas (SANTOS e CASTANHO, 2002).

Os lipossomas podem ser preparados a partir de misturas lipídicas naturais extraídas e purificadas, o que os torna extremamente biocompatíveis, ou a partir de lípidios sintéticos, disponíveis comercialmente. Podem ser classificados em termos de tamanho, número de lamelas (e sua posição relativa), constituição lipídica (o que também condiciona a sua carga), estabilidade e modo de preparação (ARAÚJO, 2005; FRÉZARD *et al.*, 2005). Uma ilustração do lipossoma pode ser vista na Figura 6.

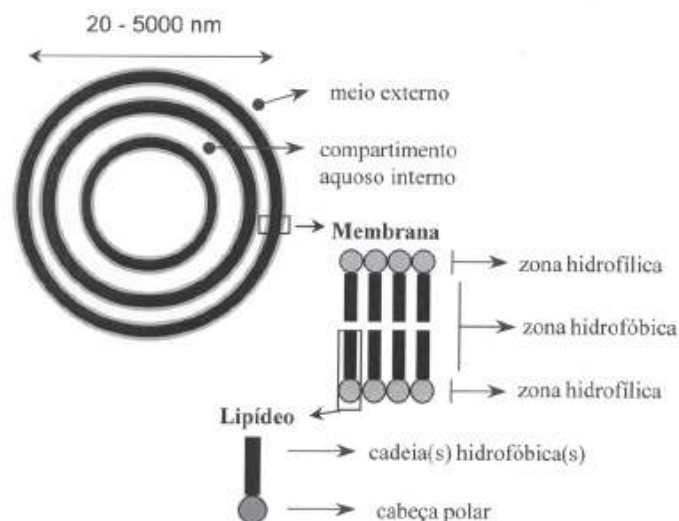


Figura 6 - Ilustração da estrutura presente no lipossoma (FRÉZARD *et al.*, 2005).

O objetivo deste transportador é aumentar o potencial terapêutico de um composto, impedindo que este se perca no trajeto para um alvo específico evitando, simultaneamente, a ocorrência de efeitos secundários nocivos noutra parte do organismo (ARAÚJO, 2005).

Uma das principais vantagens na utilização de lipossomas como transportadores é a facilidade de incorporação de um fármaco, independente da sua carga ou massa molecular (ARAÚJO, 2005; RANG *et al.*, 2004). Além disso, os sistemas de vesículas lipídicas encontram-se já bastante caracterizados em termos físico-químicos, de estrutura, de estabilidade, de toxicidade, de imunogenicidade e das formas de administração *in vivo* (intravenosa, intramuscular, subcutânea, dérmica, ocular, pulmonar, nasal ou oral), dispondo-se de um vasto leque de possibilidades na escolha do sistema mais adequado para cada fim (VILLANOVA e CONSIGLIERI, 1999).

Na maioria das suas aplicações, as vesículas lipídicas, como qualquer outro sistema coloidal estranho ao organismo, são expostas a vários agentes específicos e não específicos, que tendem a reduzir a sua presença. Embora esta eliminação seja, em geral, consideravelmente mais lenta do que no caso de um fármaco livre, pode comprometer algumas possibilidades de sua aplicação em determinados sítios do organismo (SANTOS e CASTANHO, 2002), a exemplo dos experimentos de Araújo (2005) onde prolonga a liberação de anestésicos é prolongada e, em consequência, uma menor quantidade de anestésico é administrada.

### 3.5.2 Quitosana

A quitosana, polissacarídeo obtido pela hidrólise alcalina da quitina, age como floculante em tratamentos de efluentes líquidos e como resina quelante na remoção de metais pesados. Este polissacarídeo vem sendo usado como sistema polimérico na liberação de fármacos, tais como a prednisolona, a albumina e a melatonina. Sua biocompatibilidade foi comprovada em implantes como biomaterial nos tecidos vivos e a sua baixa toxicidade foi verificada em animais. Estas propriedades permitiram o emprego da quitosana em formulações farmacêuticas e médicas.

Comprimidos encapsulados por quitosana comportam-se como géis em soluções de baixo pH e são adequados para a liberação de fármacos solúveis em água, administrados via oral (JOSUÉ *et al.*, 2000).

A estrutura linear da quitosana pode ser vista na Figura 7.

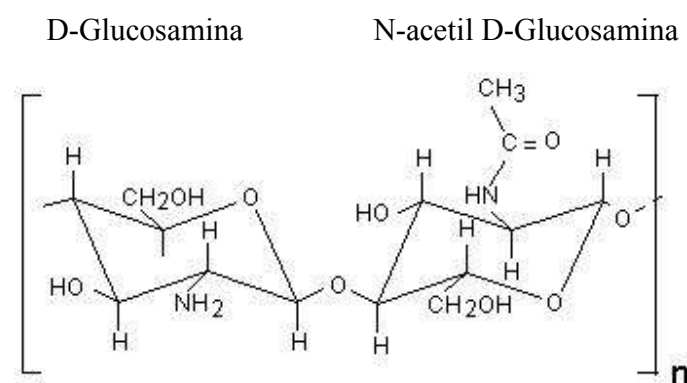


Figura 7 - Estrutura da quitosana (FELT, 1999).

### 3.5.3 Hidrogel

Hidrogéis são redes de materiais poliméricos que não se dissolvem em água. Ao contrário, têm a habilidade de absorver uma grande quantidade de água (hidrofílico) formando um gel. Com aparência de gelatina transparente, podem ser fabricados através de proteínas naturais ou sintéticas (SEIDEL e MALMONGE, 2000).

Uma estrutura nanoestruturada de um hidrogel pode ser vista na Figura 8.

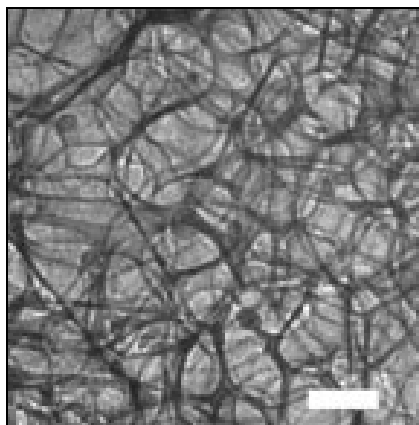


Figura 8 - Estrutura em nanoescala de um hidrogel. A barra representa uma escala de 0,2  $\mu\text{m}$  (GORMAN, 2002).

A importância dos hidrogéis como biomateriais decorre da semelhança de suas propriedades físicas com os tecidos vivos, tais como elevado conteúdo de água, consistência macia e elástica e baixa tensão interfacial. Em função dessas propriedades, os hidrogéis podem ser aplicados em cateteres, sensores (eletrodos), substratos de culturas de microorganismos, membranas de hemodiálise, lentes de contato flexíveis, enxertos vasculares, imobilização de enzimas e sistemas que liberam drogas, entre outros (BARCELLOS *et al.*, 2000).

Atualmente, um dos grandes interesses na utilização de hidrogéis está relacionado com o processo de liberação controlada de medicamentos. Em geral, esta aplicação tem como requisito principal a utilização de materiais que sejam biocompatíveis. Dentre os vários mecanismos utilizados na incorporação de drogas a hidrogéis, destacam-se o intumescimento do hidrogel em solução contendo a droga e posterior adsorção, e o enxerto através de uma reação química (BARCELLOS *et al.*, 2000).

#### 3.5.4 Compósitos hidroxiapatita-colágeno

Compósitos hidroxiapatita - colágeno (HAp-col) são biomateriais em potencial, pois seus componentes individuais são biocompatíveis. O colágeno promove cicatrização de fraturas e regeneração óssea e é, também, um agente hemostático. Além disso, ambos os componentes possuem baixo índice de irritabilidade ou alergenicidade (2%), são biodegradáveis, possuem habilidade em promover crescimento celular e são de fácil obtenção.

O aspecto mais importante na utilização de colágeno na forma de compósitos com biocerâmicas é o fato de esta proteína ser a matriz em que os sais de fosfato de cálcio se depositam para dar origem ao tecido ósseo. A hidroxiapatita tem sido amplamente utilizada na preparação de compósitos devido à sua similaridade com o tecido calcificado do osso humano. Apresenta fragilidade característica das cerâmicas, portanto, sua combinação com colágeno torna o seu uso como biomaterial mais vantajoso (OGAWA e PLEPIS,

2002).

Uma micrografia da estrutura do compósito hidroxiapatita-colágeno pode ser vista na Figura 9.

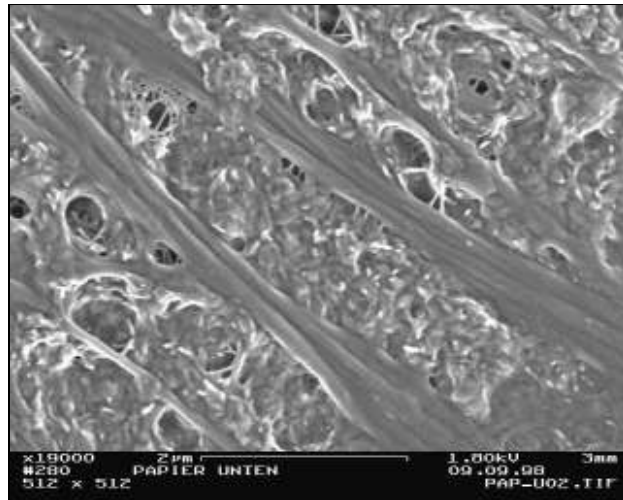


Figura 9 - Microestrutura mostrando fibras de colágeno em uma matriz de hidroxiapatita (FULLER Jr., 2006).

### 3.5.5 Ciclodextrinas

A hidrólise enzimática do amido, geralmente, resulta na formação de glicose, maltose e em uma longa classe de dextrinas lineares e ramificadas. No entanto, alguns microorganismos e plantas (que produzem enzimas denominadas ciclodextrina glicosiltransferases) são capazes de degradar o amido em produtos cíclicos chamados ciclodextrinas (LOFTSSON e MASSON, 2001).

As três ciclodextrinas naturais são a alfa, a beta e a gama, compostas de seis, sete e oito unidades de D-(+)-glicopirranose, respectivamente. Esses agentes têm, em sua estrutura, grupos hidroxil primários e secundários

orientados para o exterior. Portanto, possuem um exterior hidrofílico e uma cavidade interna relativamente hidrofóbica que, por sua vez, permite as ciclodextrinas complexarem-se com moléculas que apresentam dimensões compatíveis com a sua cavidade (ARAÚJO *et al.*, 2003). A Figura 10 mostra uma representação das ciclodextrinas- $\beta$ , onde pode ser verificada a formação de uma cápsula.

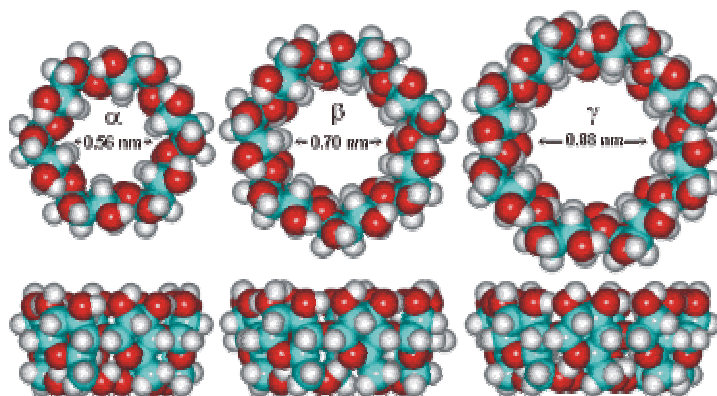


Figura 10 - Representação da estrutura da ciclodextrina  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Os diâmetros dependem do número de unidades de glicose. A espessura das unidades é a mesma para as três formas, cerca de 0,8 nm (CHAPLIN, 2006).

Além da estabilização, a modificação da farmacocinética e das propriedades biofarmacêuticas das drogas são os efeitos mais significantes da complexação com as ciclodextrinas. Esses efeitos são observados especialmente na solubilidade e na liberação da droga complexada ao veículo. Como consequência disso, a administração de fármacos complexados ao veículo beta-ciclodextrina, altera a intensidade e a duração de seus efeitos através da baixa absorção sistêmica das drogas (ARAÚJO *et al.*, 2003).

### 3.6 Fármaco Teste

Para esse estudo foi utilizado o fármaco denominado Prolopa® HBS (levodopa + benzerazida) muito administrado em pacientes acometidos pela Doença de Parkinson (DP).

#### 3.6.1 Levodopa

A levodopa é um medicamento utilizado para tratar a Doença de Parkinson e pode ser combinada com o inibidor de dopa descarboxilase (carbidopa ou benserazida) que reduz a dose necessária (cerca de 10 vezes) e diminui os efeitos colaterais periféricos. A meia vida plasmática dura em torno de 2h e, para a sua efetividade, a levodopa deve penetrar na barreira hematoencefálica. Não existe ainda a certeza se esse efeito depende de uma liberação aumentada de dopamina dos neurônios dopaminérgicos existentes ou do alto índice de estriado sobre a dopamina exógena (RANG *et al.*, 2004).

No entanto, acredita-se que, na fase inicial da doença, a levodopa seja captada pelos neurônios dopaminérgicos e convertida em dopamina que, por sua vez, é estocada em vesículas. Com a progressão da doença e conseqüente degeneração dos neurônios, acredita-se que a levodopa se converta em dopamina fora das células dopaminérgicas, não sendo mais estocada em vesículas, diminuindo o tempo do efeito da levodopa (FERRAZ, 2005).

Quimicamente, a L-Dopa é a L-3,4-diidroxifenilalanina, precursor metabólico imediato da dopamina. É formada a partir da L-tirosina, como intermediário da síntese enzimática de catecolaminas. A dopamina é sintetizada diretamente a partir da levodopa, sob a ação de enzima citoplasmática, a descarboxilase dos L-aminoácidos aromáticos (ROCHE® do Brasil).

A Figura 11 mostra a estrutura química da levodopa.

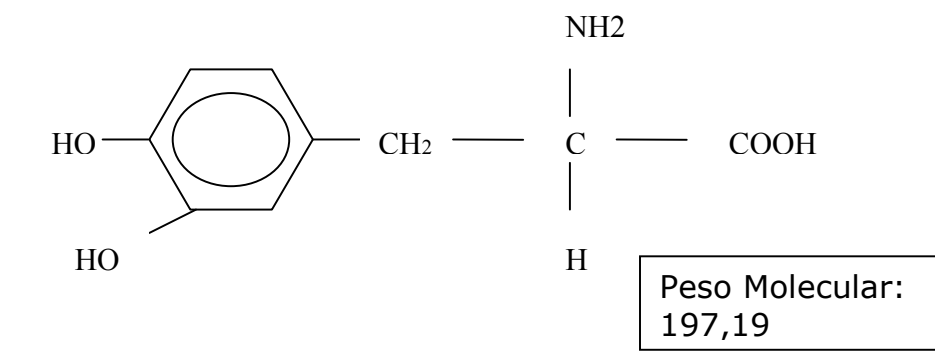


Figura 11 - Estrutura química da levodopa, cuja fórmula molecular é  $C_9H_{11}NO_4$  ( L-Tirosina, 3-hidroxi-(-)-3-(3,4-diidroxifenil)-L-alanina)(ROCHE® do Brasil, 2006)

O fármaco Prolopa® HBS (levodopa + benzerazida) é composto por:

1. Ingredientes ativos: Levodopa + Cloridrato de benserazida 125 HBS\*, contendo 100 mg de levodopa (L-dopa) e 28,5 mg de cloridrato de benserazida, correspondente a 25 mg de benserazida;
2. Excipientes: Levodopa + Cloridrato de benserazida 125 e hidroxipropilmetilcelulose (HBS), óleo vegetal hidrogenado, fosfato de cálcio dibásico anidro, manitol, talco, polivinilpirrolidona, estearato de magnésio.

HBS é uma sigla adotada internacionalmente e significa Hydrodynamically Balanced System, uma apresentação especial que propicia uma liberação prolongada das substâncias ativas no estômago, onde a cápsula de Levodopa + Cloridrato de benserazida HBS permanece várias horas.

O comprimento de onda da linha de absorção específico para levodopa é de 280 nm e para a benserazida é de 260 nm. Entretanto, o comprimento de onda da linha de absorção de Prolopa® HBS é de 270 nm.

### 3.6.2 Doença de Parkinson (DP)

Primeiramente descrita por James Parkinson em "An Essay on the Shaking Palse" (1817), a doença de Parkinson é um dos distúrbios do movimento que acomete principalmente os idosos, podendo também, acometer jovens, porém, em número inferior (MENESES e TEIVE, 1996).

O processo neurodegenerativo que ocorre na DP não está completamente esclarecido. Descobertas recentes sugerem que a doença poderia estar associada a algum tipo de estresse oxidativo motivado por um ou mais fatores, como o envelhecimento cerebral, predisposição genética, anomalias mitocondriais, produção de radicais livres e toxinas ambientais (LANGSTON, 1996; OLANOW *et al.*, 1998 *apud* PREDIGER, 2005).

Apesar da maior prevalência da DP ocorrer de acordo com o avanço da idade, fatores genéticos e ambientais também vêm sendo estudados e existem suspeitas de que um agente ambiental poderia influenciar decisivamente nos

resultados de indivíduos geneticamente susceptíveis (MENESES e TEIVE, 1996).

A DP é caracterizada por quatro sinais essenciais: bradicinesia, tremor de repouso, rigidez e instabilidade postural (BENNETT e PLUM, 1997). Há também comprometimento cognitivo, que, aliado ao distúrbio motor, gera incapacidade comparável aos acidentes vasculares cerebrais (MENEZES e TEIVE, 1996).

Outros sinais e sintomas que podem estar presentes na DP são: exagero dos reflexos axiais da face (particularmente, o orbicular das pálpebras), sialorréia (que geralmente traduz bradicinesia), hipersecreção sebácea (fácies em máscaras), edema de membros inferiores, depressão do humor e quadro de inquietação muscular (acatisia). A DP é essencialmente uma doença crônica de caráter progressivo, sendo que os sintomas costumam ter início insidioso e assimétrico (SANVITO, 1997).

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Cápsulas de Anortita**

#### **4.1.1 Projeto das cápsulas**

Para este estudo, as cápsulas de Anortita foram projetadas e desenvolvidas no Instituto Grade de Ciências Básicas (IGCB), localizado no município de Schroeder, no Estado de Santa Catarina. Foram inicialmente desenhadas em CAD, levando-se em consideração suas dimensões e formato para que facilitasse o manuseio durante o experimento.

Dimensões das cápsulas: o diâmetro das cápsulas é 10 mm. A espessura da parede é  $> 1$  mm (variável em função da precisão do sistema de prototipagem).

#### **4.1.2 Confecção das cápsulas**

O processo de fabricação das cápsulas seguiu etapas normais de fabricação de vitrocerâmicos com mistura de componentes em razões pré-definidas (FERNANDES *et al.*, 2003), aquecimento à fusão, conformação e cristalização controlada.

Inicialmente, para o processo de colagem, foram fabricados moldes em gesso para a confecção de cadinhos, mostrados na Figura 12. Esses cadinhos foram submetidos à secagem em forno a 100°C, para a eliminação da água livre

e a tratamento térmico para sinterização.



Figura 12 - Cadinhos de alumina para fusão do vidro.

Os cadinhos, considerados em condições ótimas, receberam  $\frac{2}{3}$  do seu volume de matéria prima (mistura de pós), como mostra a Figura 13, e levados ao forno Jung®, mostrado na Figura 14, na temperatura de  $1600^{\circ}\text{C}$  para a fusão do material.



Figura 13 - Cadinho de alumina contendo a mistura de pós a ser fundida.



Figura 14 - Forno Jung® de 1600°C utilizado para fusão da matéria prima.

Atingida a temperatura de fusão, o cadinho contendo o material em sua fase líquida, foi retirado do forno e o seu conteúdo foi rapidamente vertido no molde em aço inoxidável, mostrado na Figura 15. Com o auxílio da prensa manual o material prensado formou as cápsulas ainda no estado vítreo. A seqüência de retirada do cadinho e conformação do conteúdo pode ser vista nas Figuras 16 e 17.

As cápsulas, ainda no estado vítreo, foram levadas para recozimento controlado no forno EDG® 1800, mostrado na Figura 18, para evitar o trincamento das peças.



Figura 15 - Detalhe do molde em aço inoxidável, mostrando quatro metades que dão origem a duas cápsulas.



Figura 16 - Abertura do forno e retirada dos cadinhos com o material fundido para vazamento no molde.



Figura 17 - Vazamento do material no molde de aço e preparação para a prensagem.



Figura 18 - Forno EDG® 1800 utilizado para recozimento.

Após o resfriamento, a matriz vítrea, mostrada na Figura 19, passou por um processo de acabamento com lixadeira e politriz, para a retirada de rebarbas. A Figura 20 mostra as metades vítreas após o acabamento.



Figura 19 - Metade de uma cápsula no estado vítreo e sem acabamento.



Figura 20 - Metades das cápsulas de no estado vítreo, com acabamento.

Após o acabamento, as cápsulas foram submetidas à cristalização em forno de cristalização Jung®, mostrado na Figura 21.



Figura 21 - Forno Jung® utilizado para a cristalização das cápsulas.

A Figura 22 mostra duas metades das cápsulas, comparando o aspecto da forma vítrea (à esquerda) com a cristalizada (à direita) que corresponde ao vitrocerâmico Anortita.



Figura 22 - Metades de cápsulas com acabamento. A matriz vítrea é mostrada à esquerda e à direita a cápsula que sofreu o processo de cristalização (vitrocerâmico Anortita).

## **4.2 Estudo *in vitro***

Os experimentos utilizando as cápsulas de Anortita como veículo para o fármaco teste, foram realizados no Laboratório de Biomembranas do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, SP.

### **4.2.1 Soluções e fármacos utilizados**

Para realizar o experimento, foi utilizada a solução tampão fosfato de Na<sup>+</sup> 0,1 M em concentrações de pH 3,5 e de pH 7,4, conforme a norma International

ISO 10993-14 de 2001, elaborada pelo Technical Committee ISO/TC - part 14, que define os parâmetros para o ensaio de degradação para testes de materiais cerâmicos para uso biológico.

O pH de 3,5 e 7,4 das soluções tampão reproduziu condições fisiológicas encontradas em processos de cicatrização (GUYTON, 2002). A escolha do pH, portanto, é justificada pelo fato da cápsula ter sido projetada para ser implantada em algum sítio do organismo, onde acarretará uma reação a corpo estranho com conseqüente variação de pH (TANG e EATON, 1995; RATNER et al., 1996).

O fármaco teste utilizado no estudo foi o Prolopa<sup>®</sup> HBS (levodopa + benzerazida).

#### 4.2.2 Teste de dissolução

##### 4.2.2.1 Preparação e imersão das cápsulas

Cinco cápsulas de anortita tiveram sua massa avaliada na balança analítica com opção para miligramas - AND®HM-202, mostrada na Figura 23, com precisão de até 4 casas após a vírgula, sendo o valor da quarta casa, a incerteza na medida.

O controle da massa (sem silicone e sem o cordão) foi usado para avaliar a degradação do vitrocerâmico de anortita, antes e após o experimento.

O procedimento de secagem em estufa e resfriamento em ambiente do laboratório foi repetido com todas as cápsulas.



Figura 23 - Balança analítica utilizada na avaliação das massas das cápsulas.

Em seguida, a metade de cada cápsulas recebeu 30 mg de Prolopa<sup>®</sup> HBS liofilizada (pó), como mostra a Figura 24. Após esse procedimento, as cápsulas foram seladas com a outra metade, utilizando silicone incolor. A Figura 25 representa a cápsula aberta e fechada e a Figura 26 mostra, em detalhe, a cápsula fechada e vedada com silicone.



Figura 24 - Metade de uma cápsula de Anortita preenchida com Prolopa<sup>®</sup> HBS.



Figura 25 - À esquerda, metade da cápsula de Anortita preenchida com Prolopa<sup>®</sup> HBS, no centro, cápsula de anortita vedada com silicone e à direita: metade da cápsula de anortita sem o fármaco.



Figura 26 - Cápsula de Anortita vedada com silicone incolor.

Para facilitar o processo de leitura e análise dos resultados, cada cápsula foi numerada de 1 a 5.

Em cada cápsula foi colado, com silicone incolor, um cordão para que pudesse ficar suspensa no interior dos frascos de Erlenmeyer. A Figura 27 mostra as cinco cápsulas prontas para o ensaio.



Figura 27 - Cápsulas de Anortita prontas para o ensaio *in vitro*.

Com relação à liberação do fármaco, optou-se, no bioensaio (*in vitro*), pela utilização da solução tampão, pois permite, conforme Rang *et al.* (2004), avaliar a concentração da substância liberada no meio estudado.

Para induzir a liberação dos fármacos, utilizou-se o modelo da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (ARAÚJO, 2005), preparando-se a quantidade de 100 ml de solução tampão fosfato, com auxílio do PHmetro Onda®, mostrado na Figura 28, com pH igual a 3,5 em quatro frascos de Erlenmeyer e solução tampão (Fosfato de Sódio) de pH igual a 7,4 em um Erlenmeyer apenas.



Figura 28 - Solução tampão sendo preparada com uso do PHmetro Onda®,

Cada frasco de Erlenmeyer recebeu uma cápsula de Anortita que permaneceu suspensa pelo cordão e submersa em solução tampão em temperatura ambiente e sob agitação constante (PAAVOLA *et al.*, 1995). Todos os frascos foram vedados para evitar evaporação. A Figura 29 mostra os frascos com as cápsulas imersas sobre agitadores.



Figura 29 - Cápsulas de Anortita contendo Prolopa® HBS suspensas em solução tampão sob agitação constante.

A agitação foi mantida utilizando-se agitadores magnéticos Fisatom®.

A técnica proposta para a dosagem da concentração da levodopa + benserazida em valores percentuais fundamenta-se na avaliação inicial da diluição de 30 mg de levodopa + benserazida, previamente estabilizada, em 100 ml de solução tampão fosfato, uma com pH 3,5 e outra com pH 7,4. Para essas soluções, foi utilizado como parâmetro o comprimento de onda no valor de 270 nm, através do espectrofotômetro Beckman DU-70®, mostrado na Figura 30.



Figura 30 - Espectrofotômetro Beckman DU-70®.

Optou-se por coletar 2 alíquotas de 1 ml nos frascos de Erlenmayer em períodos de tempo determinados: 24h após o início, 72h e 120h. O volume da amostra retirada era substituído, na mesma quantidade, por solução tampão de igual pH para que se mantivesse a quantidade de solução nos frascos.

A armazenagem das alíquotas foi realizada através de dois tubos plásticos de 1 ml identificados por 1 e 2.

Para avaliar a liberação de Prolopa® HBS foi necessário ajustar o espectrofotômetro, em comprimento de onda entre 200 nm e 400 nm, usando apenas a solução de tampão fosfato sem o fármaco teste. A leitura dos tubos avaliou a absorbância de Prolopa® HBS liberada pela cápsula de Anortita e diluída em solução tamponada.

Cada amostra, portanto, foi analisada separadamente para estimar a quantidade de Prolopa® HBS liberada, medindo-se a absorbância no espectrofotômetro UV-VIS. Os resultados foram analisados como porcentagem cumulativa de Prolopa® HBS liberada no meio, em função do tempo.

Cada cápsula de Anortita continha 30 mg Prolopa® HBS, portanto, primeiramente foi necessário determinar o valor de absorbância de 30 mg de Prolopa® HBS livre em 100 ml de solução tampão. O valor encontrado de 1,312.

Para se encontrar a porcentagem do fármaco liberado pela cápsula de Anortita, foi necessário calcular a média da absorbância das 2 amostras coletadas de cada frasco de Erlenmayer.

Com o valor dessa média e com o valor da absorbância de 30 mg do fármaco (1,312) através de uma regra de três simples, é possível quantificar, em porcentagem, a totalidade de Prolopa® HBS liberada pelo vitrocerâmico Anortita em 100 ml de solução tampão.

#### 4.2.3 Avaliação da pervidade da cápsula de anortita

Para saber se cápsula de Anortita permitiu a passagem de líquidos para o interior da mesma foi necessário, nas primeiras 24h de submersão na solução tampão, retirar uma delas do frasco de Erlenmeyer, escolhida através de um sorteio entre as cápsulas mergulhadas em pH 3,5.

A avaliação se deu por meio da análise da massa da cápsula e pela observação visual do fármaco em seu interior. É importante salientar que as massas das cápsulas cheias (com fármaco) foram avaliadas, antes de serem seladas com o silicone e também após, com o silicone seco, sendo que ao final do ensaio, o valor da massa alterado pelo silicone foi deduzido, pois não foi observada alteração dessa massa, quando pesado.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Análise da massa

A análise realizada através da avaliação das massas das cápsulas de Anortita vazias, entre o início e o final do experimento, possibilitou analisar a degradação do vitrocerâmico.

As Tabelas 1, 2 e 3 mostram as diferenças de massa de cada cápsula do vitrocerâmico de Anortita em relação ao tempo de realização do estudo *in vitro*.

A Tabela 1 apresenta, na 1ª coluna, as cápsulas numeradas de 1 a 5. A 2ª coluna (vazia/seca) mostra a massa das cápsulas sem a adição do fármaco teste. Na 3ª coluna já se observa a massa de cada cápsula contendo 0,03 mg de Prolopa® HBS. A 4ª coluna apresenta a diferença de massa entre as cápsulas antes da montagem com o fármaco e após.

Tabela 1 - Diferença de massa das cápsulas de Anortita antes da imersão.

| CÁPSULAS   | Pesagem das cápsulas antes da imersão |                         |                                    |
|------------|---------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|
|            | vazia/seca(g)<br>± 0,001g             | montada (g)<br>± 0,001g | diferença de massa (g)<br>± 0,001g |
| 1 (pH 7,4) | 1,195                                 | 1,225                   | 0,030                              |
| 2 (pH 3,5) | 1,241                                 | 1,271                   | 0,030                              |
| 3 (pH 3,5) | 1,318                                 | 1,348                   | 0,030                              |
| 4 (pH 3,5) | 1,309                                 | 1,339                   | 0,030                              |
| 5 (pH 3,5) | 1,269                                 | 1,299                   | 0,030                              |

A Tabela 2 apresenta a diferença de massa referente às primeiras 24h de imersão da cápsula 3, que foi retirada do experimento através de um sorteio. A cápsula foi aberta, esvaziada, a sua massa foi medida, em seguida, foi submetida à secagem e pesada novamente.

Tabela 2 - Diferença de massa registrada 24h após imersão, referente à cápsula de número 3.

| Cápsula    | 24h após imersão            |                            |                                    |
|------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------------|
|            | úmida/vazia (g)<br>± 0,001g | seca/vazia (g)<br>± 0,001g | Diferença de massa (g)<br>± 0,001g |
| 3 (pH 3,5) | 1,321                       | 1,318                      | 0,003                              |

Ao abrir-se a cápsula, observou-se que o fármaco em seu interior estava úmido. Portanto, houve passagem de solução tampão para o interior da cápsula.

Após esta avaliação de massa com a peça 3 úmida, a mesma foi submetida à secagem em estufa por 4h em 37°C. Terminado o período de secagem, a peça foi retirada da estufa e colocada no ambiente do laboratório para resfriamento durante 2h e, novamente, a sua massa foi medida. Foi encontrado o mesmo valor da massa de antes da imersão, portanto, não foi possível inferir sobre a degradação da peça, entretanto permitiu observar que a massa da peça úmida era maior que depois de seca, ou seja, a cápsula foi permeável.

A Tabela 3 mostra as diferenças entre as massas das cápsulas no início e no final do ensaio *in vitro*.

Tabela 3 - Diferenças de massa das cápsulas vazias e secas entre o início (anterior a imersão) e o final do experimento.

| <b>Cápsulas</b>   | <b>Anterior a imersão<br/>± 0,001g</b> | <b>120h (final do<br/>experimento) ±<br/>0,001g</b> | <b>Diferença de massa (g)<br/>± 0,001g</b> |
|-------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>1 (pH 7,4)</b> | 1,195                                  | 1,194                                               | 0,001                                      |
| <b>2 (pH 3,5)</b> | 1,241                                  | 1,237                                               | 0,004                                      |
| <b>4 (pH 3,5)</b> | 1,309                                  | 1,304                                               | 0,005                                      |
| <b>5 (pH 3,5)</b> | 1,269                                  | 1,267                                               | 0,002                                      |

A cápsula 1 apresentou uma pequena diferença de massa de 0,001 g em relação ao início do experimento, mostrando a baixa tendência de degradação da Anortita em meio alcalino.

Observando-se os valores referentes às cápsulas 2, 4 e 5, percebe-se uma diferença de massa entre o início e o final do experimento variando entre 0,002 g e 0,005 g. Portanto, este resultado permitiu verificar que a Anortita sofreu degradação em meio ácido.

## 5.2 Análise da liberação de Prolopa® HBS

Com o auxílio do espectrofotômetro, foi possível avaliar a absorbância das amostras, mostradas na Tabela 4, o que possibilitou calcular a quantidade, em mg, de Prolopa®HBS, liberadas pelas cápsulas de Anortita, dispersas nas diferentes soluções tampão, conforme mostra a Tabela 5.

As porcentagens de liberação foram calculadas com base na massa de 30 mg do fármaco Prolopa® HBS, inseridas em cada cápsula.

Tabela 4 - Valores da absorbância.

| Cápsulas | pH  | Absorbância |        |        |
|----------|-----|-------------|--------|--------|
|          |     | 24h         | 72h    | 120h   |
| 1        | 7,4 | 0,0262      | 0,0656 | 0,0666 |
| 2        | 3,5 | 0,0130      | 0,0261 | 0,0263 |
| 4        | 3,5 | 0,0132      | 0,0788 | 0,0917 |
| 5        | 3,5 | 0,0130      | 0,0524 | 0,0525 |

Tabela 5 - Resultado da liberação de Prolopa® HBS.

| Cápsulas | pH  | Total de fármaco liberado (mg) |     |      |
|----------|-----|--------------------------------|-----|------|
|          |     | 24h                            | 72h | 120h |
| 1        | 7,4 | 0,6                            | 1,5 | 1,5  |
| 2        | 3,5 | 0,3                            | 0,6 | 0,6  |
| 4        | 3,5 | 0,3                            | 1,8 | 2,1  |
| 5        | 3,5 | 0,3                            | 1,2 | 1,2  |

Foi possível verificar que o fármaco Prolopa® HBS já se encontra disperso na solução tampão, após 24h de imersão das cápsulas, notando-se uma liberação mais acentuada até 72h e uma tendência a estabilização em 120h, com exceção da cápsula 4, onde se observa o aumento dos valores de absorbância e conseqüentemente na quantidade de fármaco liberado.

## 6 DISCUSSÃO

As cápsulas de Anortita foram confeccionadas de acordo com os procedimentos para a fabricação de vitrocerâmicos (STRNAD, 1986; PARK e LAKES, 1992; SMITH, 1998; ORÉFICE *et al.*, 2006). Entretanto, alguns fatores dificultaram a confecção de um número maior de cápsulas, a exemplo do domínio das técnicas práticas do processo de fabricação, bem como a aquisição de equipamentos em função do tempo limitado para conclusão do estudo, o que justifica a utilização de apenas 5 cápsulas.

Para se implementar estudos que possam validar a Anortita como um veículo de fármacos, faz-se necessário aprimorar a fabricação das cápsulas, pré-determinando sua espessura e viabilizando um encaixe que permita que as metades sejam bem vedadas, para que não haja necessidade de se utilizar qualquer tipo de cola.

A Anortita, conforme já descrita por Cavalheiro (2005), pode ser considerada um biomaterial de origem sintética e o presente estudo procurou explorar a possibilidade de sua utilização como veículo para a liberação continuada de Prolopa® HBS (medicamento utilizado por pacientes com doença de Parkinson). Portanto, a realização do bioensaio, neste trabalho, apontou a viabilidade de aplicação da Anortita como veículo para liberação de fármacos, e que esta aplicação poderá ser confirmada através de ensaios futuros *in vivo* (MARCOLONGO, 2003).

Com a finalidade de simular o ambiente corpóreo, ou seja, fluidos e eletrólitos em movimento, correspondendo ao conceito de bioatividade definido por Silva Júnior e Orefice (2001), foram utilizados os agitadores magnéticos sob os frascos de Erlenmayer, onde as peças de Anortita ficaram suspensas e imersas nas diferentes soluções tampão. Entretanto, não foi possível realizar o estudo com outras soluções tampão, e também não foi realizada a substituição total da solução tampão a cada análise de alíquotas, suscitando novas hipóteses.

O estudo mostrou que houve passagem do fármaco para o exterior da cápsula e de solução tampão para o interior desta, contudo não foi possível inferir que a solução ficou saturada, pois a cápsula 4, diferentemente das demais, manteve aumento da liberação do fármaco para o exterior da mesma em condições iguais as cápsulas 2 e 5.

Com relação à liberação do fármaco pela cápsula 1, esta comportou-se de forma similar às cápsulas 2 e 5, reforçando a necessidade de realizar o estudo com número maior de cápsulas, em diferentes soluções tampão e em sistemas abertos com troca de soluções tampão.

A leitura da massa apresentada pela cápsula 3 (24h após imersão) mostrou que a Anortita permitiu a passagem da solução tampão, pois, o fármaco (Prolopa® HBS) armazenado no seu interior estava úmido. Isso demonstra que a parede da cápsula de Anortita foi permeável e permitiu a entrada de solução tampão em seu interior, reforçando, assim, os relatos de Cavalheiro (2005), quando reporta o fato das cápsulas serem porosas.

Através dos valores de massa do fármaco liberados nas soluções tampão com pH igual a 3,5, observa-se uma variação significativa, mostrando a necessidade da realização do bioensaio em um número maior de cápsulas e durante um período mais prolongado. Isso permitirá avaliar, de forma mais adequada, o comportamento desta liberação. No entanto, houve uma liberação continuada do fármaco, mostrando a possibilidade de utilização da Anortita como sistema de liberação continuada de medicamentos, mantendo o índice terapêutico estável e adequado no organismo (WILLIAM, 1987; FOLKMAN, 1990; PARK, 1979; SANTOS e CASTANHO, 2002; BAKER, 1987; FISCHBACH, 1998 e JOSUE, 2000).

As cápsulas de vitrocerâmico serviram como um sistema do tipo reservatório, pois o fármaco teste encontrava-se inserido na cavidade central da cápsula, a qual serviu como reguladora da taxa de liberação desse fármaco (KIMURA e OGURA, 2001; DASH e CUDWORTH, 1998). Nesse sentido, a Anortita difere do polímero com relação à dispersão do fármaco, pois o mesmo não está disperso na matriz ou dissolvido na superfície do vitrocerâmico e sim, armazenado na câmara existente no interior do biomaterial.

Com relação às cápsulas 2, 4 e 5, ao final do ensaio, percebeu-se que suas massas foram menores (Tabela 3) do que as massas observadas no início, concordando com os experimentos de Cavalheiro (2005), a qual observou que a Anortita responde mais rapidamente à degradação em meio ácido. Apesar da realização do bioensaio em uma única cápsula em meio alcalino, o comportamento em relação à degradação esteve de acordo com o observado

nos estudos de Cavalheiro (2005). Os resultados da avaliação das massas das cápsulas de Anortita, portanto, mostram um comportamento inerente aos materiais inteligentes e biodegradáveis (HENCH, 1991; UHRIG e TSOUKALAS, 1997).

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados do estudo mostraram que a utilização do vitrocerâmico Anortita como veículo ou sistema de liberação de fármacos é viável.

A fabricação das cápsulas de Anortita mostrou-se, inicialmente complexo, entretanto, após o experimento, já é possível fabricar as cápsulas com maior facilidade.

A análise da massa da cápsula de Anortita permitiu avaliar e quantificar sua degradação *in vitro* tanto em pH 3,5 como em pH 7,4.

A análise de dissolução *in vitro* (bioensaio) possibilitou determinar a quantidade de fármaco dissolvido em solução tampão de pH 3,5 e pH 7,4 em relação ao tempo, mostrando que o fármaco colocado no interior das cápsulas atravessou a parede das mesmas, ou seja, as cápsulas foram permeáveis ao fármaco teste e solução tampão utilizados no estudo.

Portanto, as cápsulas de Anortita serviram como um sistema do tipo reservatório, pois o fármaco teste encontrava-se inserido na cavidade central da cápsula, a qual serviu como reguladora da taxa de liberação desse fármaco, observando-se diminuição da massa desta cápsula, ou seja, degradação.

## 8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para os novos experimentos, *in vitro*, pode-se utilizar o marcador “Rodamina<sup>®</sup>” (já caracterizado em literatura) ou outro similar, a fim de estabelecer a cinética de degradação das cápsulas de Anortita.

Após estabelecer a cinética de degradação das cápsulas de Anortita, é importante desenvolver ou aprimorar tecnologias que possibilitem a criação de câmaras ou vesículas, no interior das mesmas (com espessuras controladas). Isso poderia contribuir na manutenção do índice terapêutico.

É interessante que se façam, *in vitro*, experimentos com diferentes substâncias de pH, bem como a realização de estudos com meio aberto para passagem de líquidos/soluções não saturadas, isso possibilitaria descrever, também, a cinética de degradação.

Outros fármacos de interesse podem ser testados, estabelecendo a sua cinética de liberação.

Com as cinéticas (degradação e liberação) bem estabelecidas, pode-se dar início aos estudos *in vivo*.

## 9 BIBLIOGRAFIA

ARAUJO, D. **Desenvolvimento e avaliação farmacológica de formulações de liberação controlada com anestésicos locais amino-amidas cíclicos: mepivacaína, bupivacaína e ropivacaína.** Tese, Departamento de Bioquímica. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2005.

\_\_\_\_\_. *et al.* Formulações de anestésicos locais de liberação controlada: aplicações terapêuticas. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, set./out. 2003, vol.53, no.5, p.663-671.

BAKER, R. **Controlled release of biologically active agents.** Willey-Interscience Publication, New York, 1987.

BARCELLOS, I. *et al.* Influência do comonômero e do método de polimerização na cinética de liberação de fenobarbitona a partir de hidrogéis. **Polímeros**, abr./jun. 2000, vol.10, no.2, p.110-115.

BENNETT, J.C., PLUM, F. **Tratado de medicina interna.** 20.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 2v.

BILLOTTE, W. G. Ceramic Biomaterials. In: **The Biomedical Engineering Handbook.** 2. ed. Joseph D. Bronzino. Boca Raton: CRC Press LLC, 2000.

BRANNON-PEPPAS, B. **Polymers in controlled drug delivery.** Medical Plastics and Biomaterials Magazine, Medical Device Link, 1997

CAVALCANTI, O. A. Excipientes Farmacêuticos: Perspectivas dos polissacarídeos na pesquisa e desenvolvimento de novos sistemas de liberação. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, 6(1):055-058, 2002. Disponível em: <http://www.unipar.br>. Acesso em: 08 jun. 2004.

CAVALHEIRO, L. B. B. H. **Estudo da biocompatibilidade e tempo de degradação do vitrocerâmico de anortita.** Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. PUC-PR, 2005.

CHAPLIN, M. Cyclodextrins. Water structure and behavior. Disponível em: <http://www.lsbu.ac.uk/water/cyclodextrin.html>, 27/11/2006.

DASH, A.K; CUDWORTH, G.C.: Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. **J Pharmacol Toxicol Methods** 1998; 40:1-12.

FELT, O. **Evaluation d'un polysaccharide cationique comme véhicule pour la voie ophtalmique.** Thèse n° 3122, Section de pharmacie - Laboratoire de pharmacie galénique et de biopharmacie, Université de Genève, 1999.

FERNANDES, Beatriz Luci ; NEVES, Etney ; SPILLER, André Luis . Produção e utilização da fase mineralógica anortita ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ) a partir da cristalização controlada de vidros para utilização como material inteligente. **INPI 02022410-9**, 2003.

FERRAZ, H. G.; CONSIGLIERI, V. O.; STORPIRTIS, S. Avaliação da Cinética de Dissolução de Ampicilina em Comprimidos Comercializados no Brasil. **Rev. Farm. Bioquím.** Univ. S. Paulo, v. 34, n. 2, p. 93-99, 1998.

FERRAZ, H. B. **Doença de Parkinson**. São Paulo: Atheneu, 2005, 194p.

FIALHO, S. L. et al. Implantes biodegradáveis destinados à administração intra-ocular. **Arq. Bras. Oftalmol.**, nov./dez. 2003, vol.66, no.6, p.891-896.

FISCHBACH, F. T. **Manual de Enfermagem exames laboratoriais e diagnósticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

FOLKMAN J. How the field of controlled-release technology began, and its central role in the development of angiogenesis research. **Biomaterials**. Nov. 1990, v.11, n. 9 p.615-618.

FRANCA, V. *et al.* Estudo comparativo experimental de compósito bioativo de matriz polimérica para aplicação em cirurgia plástica ocular na substituição tecidual. **Arq. Bras. Oftalmol.**, jul./ago. 2005, vol.68, n.4, p.425-431.

FRÉZARD, F., SCHETTINI, D. A. O., ROCHA, G. F. DEMICHELI, C. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. **Quim. Nova**, vol. 28, n. 3, 511-518, 2005.

FULLER Jr., E. R. **Computer simulations of cracking in a strained bone implant material**. Disponível em: <http://www.ctcms.nist.gov/~fuller/RESEARCH/bone/micro.html>, 27/11/2006.

GORMAN, J. **Beyond Jell-O: new ideas gel in the lab**. Science News, vol. 161, n. 21, May 25, 323, 2002.

GUICHEUX, J. *et al.* Association of human growth hormone and calcium phosphate by dynamic compaction: in vitro biocompatibility and bioactivity. **Biomed Mater Res**; 36(2):258-64, United states; 1997 Aug.

GUYTON, A.,;HALL,J. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.

HENCH, L. L. - Bioceramics: from concept to clinic. **J. Am. Ceram. Soc.**, 74, n.7, p.1487-1510, 1991.

ISO 10993-14. **The International Organization of Standardization**. Biological evaluation of medical devices-Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics, 2001.

ITOKAZU, M. *et al.* Development of porous apatite ceramic for local delivery of chemotherapeutic agents. **Biomed Mater Res**; vol.39, n.4, p.536-8, United States; 1998a Mar.

\_\_\_\_\_ *et al.* Synthesis of antibiotic-loaded interporous hydroxyapatite blocks by vacuum method and in vitro drug release testing. **Biomaterials**; vol.19, n.7-9, p.817-9, England; 1998b Apr-May.

JOSUE, A. *et al.* Liberação Controlada da eosina impregnada em microesferas de copolímero de quitosana e poli(ácido acrílico). **Polímeros**, jul./set. 2000, vol.10, n.3, p.116-121.

KAWANABE, K. *et al.* Treatment of osteomyelitis with antibiotic-soaked porous glass ceramic. **J Bone Joint Surg Br**; 80(3):527-30, England; 1998 May.

KIMURA, H.; OGURA, Y.: Biodegradable polymers for ocular drug delivery. **Ophthalmologica**. 2001;215:143-55.

KLEIN, C., HURLBUT, C. S. **Manual of Mineralogy**. John Wiley & Sons, New York, 1993, 681p.

LOFTSSON, T.; MASSON, M. Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. **Int J Pharm**, 2001; 225:15-30.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos**: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. Dissertação. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2003.

MAYES, A. **Materials for Biomedical applications**, MIT, 2004. Disponível em: <http://ocw.mit.edu/OcwWeb/Materials-Science-and-Engineering/3-051JSpring2004/CourseHome/index.htm> , Acesso em 08/07/2006.

MENESES, M. S.; TEIVE, H. A. G. **Doença de Parkinson**; aspectos clínicos e cirúrgicos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

MORAES, P. C. *et al.* Biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado no rádio de coelhos. **Acta Cir. Bras.**, jul./ago. 2004, vol.19, no.4, p.351-359.

NEVES, E. **Obtenção de Vitro-cerâmicos a partir de Cinza Pesada de Carvão Mineral**. Tese, Departamento de Engenharia de Materiais, UFSC, 2002.

OGAWA, C. A.; PLEPIS, A. M. G. Liberação *in vitro* de cloridrato de ciprofloxacina em compósitos hidroxiapatita: colágeno. **Polímeros**, 2002, vol.12, n.2, p.115-122.

ORÉFICE, R.L., PEREIRA, M.M., MANSUR, H.S. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006, 538p.

PAAVOLA, A., *et al.* Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block. **Pharm. Res**, 12, 1995.

PARK, J. B. **Biomaterials**: an introduction. New York: Plenum Press; 1979.

\_\_\_\_\_. **Biomaterials Science and Engineering**. Plenum Press, New York, 1984.

PARK, J. B.; LAKES, R. S. **Biomaterials**: an introduction. 2.ed, Plenum Press, New York, 1992.

PEREIRA, A. P. V.; VASCONCELOS, W. L.; OREFICE, R. L. Novos biomateriais: híbridos orgânico-inorgânicos bioativos. **Polímeros: ciência e tecnologia**, out./dez. 1999, vol.9, no.4, p.104-109.

PREDIGER, R. D. S. **Prejuízos olfativos e cognitivos em modelos da doença de parkinson em ratos. Participação de mecanismos adenosinérgico e dopaminérgico** Tese. Curso de Pós-Graduação em Farmacologia. Centro de Ciências Biológicas UFSC, 2005.

RANG, H. P. *et al.* **Farmacologia**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

RATNER, B.D., HOFFMAN, A.S., SCHOEN, F.J. & LEMONS, J.E. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. San Diego: Academic Press, 1996, 484p.

ROGERO, S. O. *et al.* Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, abr./jun. 2003, vol.6, no.3, p.317-320.

SANTOS LA, *et al.* Influence of polymeric assitives on the mechanical properties of a-tricalcium phosphate cement. **Bone** 1999; vol.25, n.2, p.99-102.

SANTOS, N. C.; CASTANHO, M. A. R. B. Lipossomas: a bala mágica acertou? **Quím. Nova**, nov./dez. 2002, vol.25, n.6b, p.1181-1185.

SANVITO, W. L. **Síndromes neurológicas**. 2.ed. Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo: Editora Atheneu, 1997.

SEIDEL, J. M., MALMONGE, S. M. **Synthesis of polyHEMA hydrogels for using as biomaterials. Bulk and solution radical-initiated polymerization techniques**. *Mat. Res.*, July, vol.3, n.3, p.79-83, 2000.

SILVA, L. *et al.* Sistemas para liberação colônica: uma alternativa para a veiculação de fármacos para efeito local ou sistêmico. **Rev. ciênc. farm**; vol.22, n.1, p.11-28, 2001.

SILVA JUNIOR, P. E.; OREFICE, R. L. Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli(Metacrilato de Metila). **Polímeros: ciência e tecnologia**, jul./set. 2001, vol.11, n.3, p.109-115.

SMITH, W. F. **Princípios de ciência e engenharia de materiais**. 3.ed. Portugal: McGraw-Hill de Portugal Ltda, 1998.

STRNAD, Z. **Glass-ceramic materials**: liquid phase separation, nucleation and crystallization. Czechoslovakia, Ed. Elsevier, 1986.

STORPIRTS, S. Dissolução e biodisponibilidade: parâmetros fundamentais para o desenvolvimento e avaliação de medicamentos. **Apostila**: Material didático para o curso homônimo promovido pela sociedade QTROP de Química Fina para o Combate a Doenças Tropicais. Rio de Janeiro, 1996.

SUPERSAXO, A. *et al.* Journal of Controlled Release, 1993, 23, 157-164

TANG, L.; EATON, J.W. Inflammatory responses to biomaterials. **American Journal of Clinical Pathology**, v.103, n.4, p.466-471, 1995.

UHRIG, R. E.; TSOUKALAS, L. H. **Fuzzy and Neural Approaches in Engineering**. John Wiley & Sons, New York, USA, 1997.

VILLANOVA, J. C. O.; CONSIGLIERI, V. O. Lipossomas como transportadores de fármacos. Parte I. Aplicações farmacêuticas, composição, propriedades e farmacocinética – Revisão. **Lecta-USF**;17(2):69-85, jul.-dez. 1999.

WILLIAM, D. F. **Definitions in biomaterials**. Elsevier, New York (1987).

YAYLAOGLU, M.B. *et al.* Development of a calcium phosphate-gelatin composite as a bone substitute and its use in drug release. **Biomaterials**; 20(8):711-9, England; 1999 Apr.