

MATRIZ DE HIDROGEL DE POLI-VINIL PIRROLIDONA (PVP) E POLI-ETILENOGLICOL (PEG) PARA DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACO

Sizue O. Rogero¹; Nádia L.S. Carneiro¹; LÍlian C. Lopérgolo²; Ademar B. Lugão¹

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN-SP – Av. Prof Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária – 05508-900 – São Paulo, SP

²Biolab Sanus Farmacêutica Ltda – Av. Bandeirantes, 5386 – 04071-900 – São Paulo, SP
sorogero@ipen.br

Resumo

Devido sua conhecida biocompatibilidade a poli vinil pirrolidona tem sido muito utilizada como biomaterial. Neste trabalho foi realizado um estudo do hidrogel à base de PVP e poli etileno glicol (PEG), reticulada por radiação gama, para compor uma matriz polimérica para dispositivo de liberação de fármaco. Foram preparados três tipos de formulação. A caracterização dos hidrogéis obtidos foi realizada pelos ensaios de fração gel, intumescimento e a toxicidade verificada no ensaio *in vitro* de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro. Os resultados obtidos demonstraram que a matriz de PVP e PEG 6000 por apresentar melhor reticulação, grau de intumescimento desejável e não apresentar toxicidade foi o hidrogel eleito. Estudos com compostos ativos de interesse devem ser continuados utilizando-se este hidrogel como matriz polimérica para compor um sistema de liberação de fármacos.

1. Introdução

Os hidrogéis de poli-vinil pirrolidona (PVP) podem ser obtidos pela reticulação induzida por radiação ionizante como feixe de elétrons [1] e radiação gama [2], por reação de Fenton[3], por fotocatalise heterogênea [4], etc.

A utilização da radiação ionizante para síntese e/ou modificação de polímeros, principalmente na área de biomateriais tem se mostrado uma técnica bastante útil, visto que permite conjugar as etapas de síntese e/ou modificação e a etapa de esterilização. No caso de modificação de polímeros a radiação ionizante pode induzir reticulação ou ramificações laterais nas cadeias poliméricas, permitindo otimizar as propriedades mecânicas dos polímeros para atender as mais diversas condições de processamento e aplicações.

Este trabalho teve como objetivo a obtenção de um hidrogel de PVP adequado para compor a matriz polimérica de um sistema de liberação de fármacos.

2. Parte Experimental

Foram preparadas algumas formulações com diferentes concentrações de PVP reticulados pela radiação gama, listados na Tabela 1.

O PVP utilizado foi o K90 fornecido pela Basf, poli-etileno glicol da Oxiteno e agar de Difco.

Tabela 1. Formulações dos hidrogéis de PVP.

Hidrogel	PVP	PEG 300	PEG 600	PEG 6000	Ágar
1	6%	1,5%	-	-	1%
2	10%	-	10%	-	-
3	20%	-	-	4%	-

Os estudos de caracterização dos hidrogéis obtidos foram realizados pelos ensaios de fração gel e de intumescimento.

A matriz eleita foi submetida ao primeiro teste de biocompatibilidade, o ensaio *in vitro* de citotoxicidade.

2.1. Ensaio de Fração Gel

Amostras com cerca de 800mg foram embaladas em saquinhos de tule e colocadas em Soxhlet, utilizando como solvente a água e mantendo refluxo por 40 horas. As amostras foram secas em estufa 50°C até atingirem peso constante.

Os cálculos das frações foram feitos utilizando-se as formulas 1 e 2:

$$F_s = (m_i - m_f) \times 100/m_i \quad (1)$$

$$F_g = 100 - F_s \quad (2)$$

onde; F_s = Fração sol
 m_i = Massa inicial
 m_f = Massa final
 F_g = Fração gel

2.2. Ensaio de Intumescimento

O ensaio de intumescimento tem por objetivo a avaliação da capacidade do material de absorver água, álcool, soluções ou outros tipos de solventes. Este ensaio foi realizado com tampão fosfato salina (PBS) pH 7,4, solução simuladora de fluido biológico.

Foram pesadas 3 amostras de cada matriz preparada, com cerca de 1g cada. As amostras foram mergulhadas em PBS e medidas da massa foram realizadas a cada 10 minutos durante as 2 primeiras horas e a cada 1 hora, por um período de 8 horas e finalmente após 24 horas do início do ensaio.

2.3. Ensaio de Citotoxicidade

Após análise dos resultados de fração gel e intumescimento será eleito o hidrogel adequado. Este hidrogel será então submetido ao ensaio *in vitro* de citotoxicidade, como o primeiro teste de biocompatibilidade. O método utilizado será o da incorporação do vermelho neutro, de acordo com as normas internacionais ISO [5] e metodologia descrita em trabalho anterior [6].

Extrato do hidrogel eleito sofrerá diluição seriada (100; 50; 25; 12,5 e 6,25%) e será colocado em contato com uma cultura de células da linhagem pré-estabelecida NCTC L929 da American Type Culture Collection (ATCC) e a toxicidade será verificada pela medida da viabilidade celular utilizando-se o corante vital vermelho neutro. O controle negativo a ser utilizado será PVC atóxico em forma de *pellets* e o controle positivo será uma solução de fenol a 0,02%. Os controles receberão o mesmo tratamento do hidrogel e são utilizados para comprovar a eficácia do ensaio.

Projetando-se os dados obtidos em gráfico pode-se determinar o índice de citotoxicidade $IC_{50\%}$ que significa a concentração do extrato que provoca a morte de 50% da população celular no ensaio.

3. Resultados e Discussão

Os resultados de fração gel obtidos foram: 7, 9 e 18 para os hidrogéis 1, 2 e 3, respectivamente.

Na Fig. 1 estão apresentadas as curvas de intumescimento dos hidrogéis 1, 2 e 3, em PBS pH 7,4.

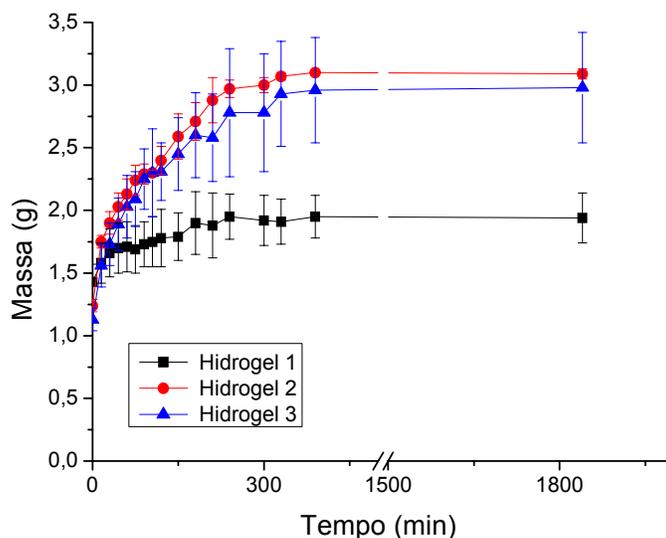


Figura 1. Curvas de Intumescimento dos hidrogéis 1, 2 e 3, em PBS pH 7,4.

Analisando os resultados da fração gel e de intumescimento dos hidrogéis estudados verificou-se que o hidrogel adequado para compor a matriz polimérica do dispositivo de liberação foi o hidrogel 3. Portanto foi realizado o teste de citotoxicidade deste hidrogel.

No ensaio de citotoxicidade, a porcentagem de viabilidade celular obtida em cada diluição do extrato do hidrogel 3 em função da concentração deste extrato projetada em gráfico está apresentada na Fig. 2.

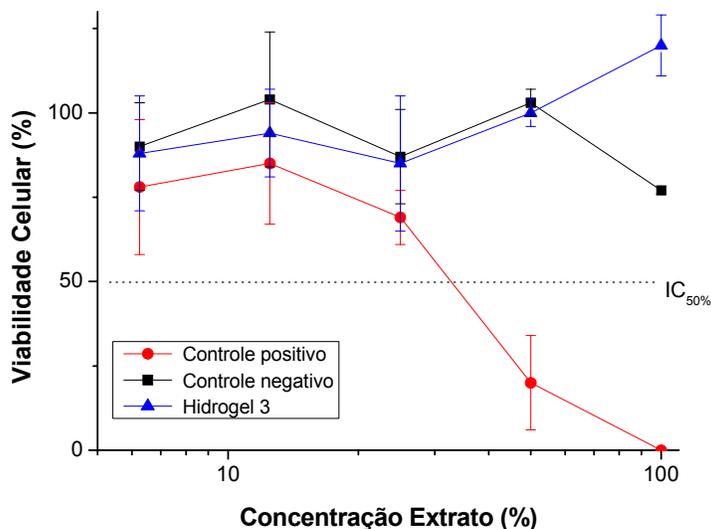


Figura 2. Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro.

Na Fig.2 pode-se verificar que o hidrogel 3 apresentou curva de viabilidade celular acima da linha do índice de citotoxicidade, comportamento este semelhante ao controle negativo, não mostrou ser tóxico. Somente o controle positivo apresentou citotoxicidade, com IC_{50%} de 35 indicando que a solução de fenol 0,02%, na concentração de 35% lesou 50% da população celular no ensaio.

4. Conclusão

Dentre as formulações estudadas foi eleita a matriz de PVP e PEG 6000 por apresentar melhor reticulação e grau de intumescimento desejável, além de não apresentar toxicidade.

Estudos com compostos ativos de interesse devem ser continuados utilizando-se o hidrogel 3 como matriz polimérica para compor um sistema de liberação de fármacos.

Referências

- [1] US Patent 4,871,490 (1989) Rosiak et al. *Method of Manufacturing Hidrogel Dressings*.
- [2] Sizue O. Rogero, José S. Sousa, N.A.P.Barboza, Ademar B. Lugão. *Sistema de liberação de fármaco: cinética de liberação in vitro e estudo in vitro de permeação do fármaco em pele de camundongo*. Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials, III, 2004, Campinas. **Proceedings of III COLAOB**, 2004.
- [3] Janaina A.G. Barros, Lilian C. Lopérgolo, Ademar B. Lugão, Luiz H. Catalani. *Produção de hidrogéis a base de poli(N vinil pirrolidona) induzida por reação de Fenton*. 24ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, SBQ, 2001.
- [4] Gabriel M. Serrasqueiro. Lilian C. Lopérgolo, Ademar B. Lugão, Luiz H. Catalani. *Produção de hidrogéis de PVP por fotocatalise heterogênea*. 24ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, SBQ, 2001.
- [5] ISO document 10 993-5, (1992), Biological evaluation of medical devices, Part 5, Tests for cytotoxicity: in vitro methods
- [6] Rogero, S.O., Malmonge, S.M., Lugão, A.B., Ikeda, T.I., Cruz, A.S. (2003), *Biocompatibility study of polymeric biomaterials*, Artificial Organs, 27, 5, 424-427.