

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE POTENCIAIS ENXERTOS ÓSSEOS OBTIDOS A PARTIR DE BLENDA POLIMÉRICAS

Santos, A. M.1; Faria, A. C. F.1; Costa, O. F. M.1; Castilho, R. O.1; Kobata, S. A.2; Araújo, I. D.2; Goulart, G. A. C.1; Faraco, A. A. G.1

¹ Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - Departamento de Produtos Farmacêuticos Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais

² Faculdade de Medicina - Departamento de Cirurgia

Resumo:

A osteomielite é uma infecção óssea que acomete 4 a 64% dos pacientes com fraturas expostas. Com uma taxa de recorrência de 20 a 30%, essa doença pode levar à perda do osso e ao óbito do paciente. Assim, o desenvolvimento de enxertos ósseos que permita a liberação controlada do antibiótico no sítio ósseo, consitui uma plataforma interessante para o tratamento da osteomielite. Neste trabalho o objetivo foi o desenvolver potenciais enxertos ósseos obtidos a partir de blendas poliméricas contendo fosfato de cálcio e cloridrato de ciprofloxacino, como antibiótico. O sistema desenvolvido foi caracterizado por calorimetria exploratória diferencial, difração de raios-x, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de fourier. A capacidade de biodegradação e liberação controlada do fármaco a partir do enxerto desenvolvido foi avaliada e comprovada através de estudos de liberação *in vitro* ao longo de 90 dias.

Palavras-chave: Enxerto ósseo polimérico, caracterização, osteomielite.

Apoio financeiro: CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Introdução:

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado, organizado, complexo e dinâmico, que desempenha várias funções no corpo, como suporte, movimentação, proteção, armazenamento de minerais e produção de células sanguíneas (PEREIRA, 2012). Em virtude dessa complexidade as infecções ósseas são de alto custo e de morbidade elevada, levando muitas vezes a lesões incapacitantes e/ou a tratamentos caros e prolongados, com resultados, às vezes, pouco promissores (VILA *et al.*, 2013). Dentre as infecções ósseas, a osteomielite tem destaque em decorrência do aumento do número de acidentes de trânsito com traumas que propiciam condições para o desenvolvimento da infecção (CARVALHO, 2013). O uso de polímeros, juntamente com o fosfato de cálcio, como base de um sistema de distribuição de fármaco implantável para tratamento antibiótico local de Infecções ósseas, tem sido amplamente estudado (ZHANG; ZHANG, 2002). Entre os antibióticos utilizados para tratar as infecções ósseas tem-se o cloridrato de ciprofloxacino (CI) (MARTINEZ-MORENO *et al.*, 2015; KEVADIYA *et al.*, 2014). Assim, foi proposta deste trabalho o desenvolvimento e caracterização de enxertos ósseos poliméricos de liberação prolongada e local de CI para o tratamento da osteomielite. Para obtenção do enxerto ósseo utilizou-se uma blenda polimérica de policaprolactona diol, gelatina e sulfato de condroitina em associação à hidroxiapatita.

Metodologia:

Os enxertos foram obtidos pela técnica de fusão e moldagem sendo utilizados CI (10% p/p), polímeros (policaprolactona diol, gelatina e sulfato de condroitina) e hidroxiapatita. A uniformidade de conteúdo dos enxertos obtidos foi realizada de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010). A determinação do teor de CI foi realizada por espectrofotometria na região do ultravioleta

(272 nm, Shimadzu UV mini - 1240, Japão), sendo o método validado de acordo com a RE 899 (BRASIL, 2003). Foram avaliados os seguintes parâmetros: especificidade/seletividade, linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez.

Os enxertos obtidos também foram avaliados por espectrometria na região do infravermelho (Espectrum 1000, Perkin Elmer), os espectros foram obtidos com uma resolução de 4 cm^{-1} , no intervalo de 4000 a 650 cm^{-1} ; calorimetria exploratória diferencial (DSC 2910, TA Instruments) utilizando rampa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, no intervalo de 0 a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$, com um fluxo de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; difração de raios-X (2 Theta = 3° – 70°), realizada no difratômetro X-ray Generator PW1710, PANanalytical (Holanda), equipado com um anodo de cobre (Cu-Ka radiation, $\lambda = 0,1541\text{ nm}$), operado 40 kV e 40 mA, com velocidade de passo de 0,06. O estudo de liberação *in vitro* do CI a partir dos enxertos obtidos foi realizado ao longo de 90 dias (30 RPM, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$) em solução tampão PBS pH 7,4. Em intervalos pré-determinados (1h, 4h, 8h, 24h e 3, 7, 14, 30, 45, 60, 75 e 90 dias) todo o líquido foi retirado dos frascos contendo os enxertos, diluídos adequadamente e avaliados a 272 nm para quantificação do CI liberado. As amostras dos enxertos de antes e depois de serem submetidas ao estudo de liberação *in vitro* foram fraturadas em nitrogênio líquido e a superfície foi metalizada com ouro/paládio para análise em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6360LV (Japão).

Resultados e Discussão:

O enxerto polimérico desenvolvido apresentou adequada uniformidade de conteúdo. As análises de caracterização por espectroscopia no infravermelho, DSC e DRX indicaram uma possível interação entre os componentes da formulação, mas sem incompatibilidade ou modificação da estrutura nos grupos funcionais do CI. As imagens de MEV obtidas antes, e ao longo do estudo de liberação *in vitro*, demonstraram a capacidade de degradação do sistema, sendo observados poros irregulares crescentes ao longo do tempo. A presença desses poros pode facilitar a integração do enxerto com a matriz óssea, servindo de *scaffold* para a migração, fixação e crescimento celular. O estudo de liberação *in vitro* mostrou a capacidade do sistema desenvolvido em promover a liberação controlada e prolongada de CI ao longo de 90 dias.

Conclusões:

O enxerto polimérico desenvolvido apresentou-se como um sistema promissor para ser usado no tratamento da osteomielite, uma vez que os estudos de caracterização mostraram ausência de incompatibilidade entre o fármaco e demais constituintes da formulação, bem como capacidade de biodegradação e presença de poros, que auxiliam na integração do enxerto com a matriz óssea. Adicionalmente, o estudo de liberação *in vitro* mostrou a capacidade do sistema desenvolvido em promover liberação controlada e prolongada do antibiótico ao longo de 90 dias.

Referências bibliográficas

BRASIL. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial da União**, 02 de Junho de 2003. p. 1–12.

CARVALHO, V. C. **Osteomielite por bacilos Gram-negativos: estudo comparativo das características clínico-microbiológicas e fatores de risco com as infecções por *Staphylococcus aureus***. 2013. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira 5ª edição, **Diário Oficial da União nº 224**, 24 de novembro de 2010, v. I, p. 73-76.

KEVADIYA, B. D. et al. Biodegradable gelatin-ciprofloxacin-montmorillonite composite hydrogels for controlled drug release and wound dressing application. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Gujarat, v. 122, p. 175–183, 2014.

MARTÍNEZ-MORENO, J. et al. Study of the Influence of Bone Cement Type and Mixing Method on the Bioactivity and the Elution Kinetics of Ciprofloxacin. **The Journal of Arthroplasty**, Valencia, v. 30, n. 7, p. 1243–1249, 2015.

PEREIRA, J. D. A. S. **Desenvolvimento de biomateriais a partir de blendas poliméricas a base de amido**. 2012. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Presidente Prudente, 2012.

VILA, P. E. A. et al. Avaliação clínica de pacientes como osteomielite crônica após

fraturas expostas tratados no Hospital de Urgências de Goiânia, Goiás. **Revista Brasileira de Ortopedia**, Goiânia, v. 48, n. 1, p. 22-28, 2013.

ZHANG, Y.; ZHANG, M. Calcium phosphate/chitosan composite scaffolds for controlled in vitro antibiotic drug release. **Journal of Biomedical Materials Research**, Washington, v. 62, n. 3, p. 378–386, 2002.