

## DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE COMPRIMIDOS PREPARADOS COM QUELATO FERRO-PEPTÍDEOS: UMA ALTERNATIVA PARA TRATAMENTO DA ANEMIA FERROPRIVA

Ana Carolina Ferreira Pinto<sup>1\*</sup>, Thais Francine Ribeiro Alves<sup>2</sup>, Marco Vinícius Chaud<sup>3</sup>

1. Estudante de IC do curso de Farmácia da Universidade de Sorocaba (UNISO)
2. Doutoranda do Programa de Pós Graduação de Ciências Farmacêuticas da UNISO
3. Prof. Dr. do Prog. de Pós Grad. em Ciências Farmacêuticas da UNISO/Orientador

### Resumo:

A suplementação de ferro na forma quelada é uma alternativa para o tratamento da anemia ferropriva, uma vez que diminui a incidência de reações adversas, aumenta a tolerabilidade e a adesão ao tratamento. O objetivo deste estudo foi preparar e avaliar as propriedades físicas, físico-químicas e biofarmacotécnicas de comprimidos compostos por quelato ferro-peptídeos.

A metodologia utilizada para obtenção do quelato ferro-peptídeos baseada na ionização dos peptídeos da caseína hidrolisada foi adequada e apresentou bom rendimento. Os resultados de IVTF mostrou ligação coordenada entre os íons  $Fe^{3+}$  e os peptídeos da caseína. Os comprimidos preparados apresentaram características físicas e físico-químicas adequadas. O tempo de desintegração foi superior a 60 minutos. Contudo, a liberação do ferro iniciou após 5 minutos e se manteve durante 120 minutos. Os resultados de liberação são relevantes, uma vez que o ferro é mais bem absorvido no duodeno proximal, após liberação no meio estomacal.

**Palavras-chave:** Deficiência de ferro; Mineral quelado; Liberação modificada.

**Apoio financeiro:** Uniso. Finep. Fapesp. CNPq.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** Uniso.

### Introdução:

A anemia ferropriva é a principal causa de anemia no mundo e atinge pessoas de todas as faixas etárias incluindo principalmente idosos, crianças, gestantes e mulheres em idade fértil. Esse tipo de anemia ocorre pela deficiência de ferro, causada pela ingestão insuficiente do mineral ou por perda de sangue em verminoses, ciclo menstrual e patologias ulceradas do trato gastrointestinal. As consequências da anemia ferropriva são baixos níveis energéticos, fadiga, afastamento do trabalho e intolerância ao frio. Em crianças, pode afetar o desenvolvimento neurológico e cognitivo, a imunidade e estatura compatível com a idade cronológica (COUTINHO; GOLONI-BERTOLLO; BERTELLI, 2005; RIBEIRO; SIGULEM, 2008; CAMASCHELLA, 2015; SMIALOWSKA; MATIA-MERINO; CARR, 2017).

Os sais ferrosos são os principais compostos indicados para o tratamento da anemia ferropriva e, embora eles apresentem elevada eficácia e rápida absorção, estão frequentemente relacionados à reações adversas, como náuseas, vômitos e diarreia, que são atribuídas à acidez desses compostos e do ferro iônico livre, que pode afetar a mucosa gastrointestinal. Tais reações adversas determinam menor tolerância e baixa adesão ao tratamento (CHAUD *et al*, 2002; CANÇADO; CHIATTONE, 2009; CANÇADO; LOBO; FRIEDRICH, 2010).

O quelato de ferro é uma alternativa aos sais ferrosos. Ele é resultado da ligação coordenada do ferro na forma iônica com peptídeos ou aminoácidos provenientes de proteínas hidrolisadas. Esta combinação origina um complexo resistente à ação de enzimas digestivas e substâncias presentes nos alimentos, além de proteger o metal da exposição direta às células da mucosa gastrointestinal, reduzindo a toxicidade local. Esses compostos mimetizam o ferro heme e têm menor incidência de reações adversas e por isso apresentam melhor tolerabilidade e maior adesão ao tratamento (CANÇADO; LOBO; FRIEDRICH, 2010).

O objetivo geral deste estudo é preparar e avaliar as propriedades físicas, físico-químicas e biofarmacotécnicas de comprimidos compostos por quelato ferro-peptídeos.

### Metodologia:

O quelato ferro-peptídeos foi preparado conforme descrito por Chaud *et al* (2002). O quelato foi obtido pela reação do cloreto férrico ( $FeCl_3$ ) com uma dispersão aquosa de caseína hidrolisada. O pH da dispersão de caseína foi ajustado acima do ponto isoelétrico, por titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N. O ponto de inflexão do pH foi observado quando a dispersão passava de turva para translúcida. Nestas condições foi adicionado o  $FeCl_3$ . O sistema foi mantido sob agitação, com velocidade controlada, durante 24 horas e, ao final deste tempo, o pH do meio foi corrigido para que ocorresse a precipitação do complexo. O pH do meio foi ajustado para valores de 2,0, 3,5, 4,5 e 5,0 para avaliar a condição que resultasse em melhor rendimento para obtenção do quelato. Ao final da reação, a suspensão foi mantida em repouso até completa decantação do material suspenso. O precipitado foi lavado com água purificada até pH constante (pH 4,5-5,0) para eliminar resíduos de HCl e NaCl formados durante a reação. O material úmido foi seco por liofilização.

A caracterização física do quelato ferro-peptídeos foi medida pelo aspecto uniforme das partículas obtidas. A caracterização físico-química do quelato ferro-peptídeos foi feita por determinação do teor de ferro usando espectroscopia de fluorescência de raios-X, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) e calorimetria diferencial exploratória (DSC). As propriedades micromeríticas do quelato foram determinadas por testes de granulometria (observando as forças de adesão e coesão), densidade aparente e forçada, ângulo de repouso e higroscopicidade.

Os resultados dos estudos de caracterização do quelato ferro-peptídeos determinaram a formulação e a técnica de produção dos comprimidos.

Os comprimidos foram caracterizados por ensaios físicos e físico-químicos. Os aspectos físicos avaliados foram uniformidade de coloração, superfície lisa, ausência de *capping* e laminação. A caracterização físico-química foi determinada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e medida de teor de ferro por espectroscopia de fluorescência de raios-X. Os ensaios físico-químicos para avaliar a qualidade dos comprimidos foram feitos segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010). Os comprimidos foram submetidos aos testes de determinação de peso médio e resistência mecânica (dureza e friabilidade), ensaio de desintegração e perfil de liberação do ferro em HCl 0,1 N.

### Resultados e Discussão:

O ponto de inflexão da dispersão de caseína foi observado em pH 9,15. Nesse valor de pH, os grupamentos carboxílicos da caseína estão desprotonados, permitindo a ligação do mineral ao peptídeo. A precipitação do material também foi influenciado pelo valor de pH, sendo que o valor de pH 5,0 indicou a melhor condição para obtenção do quelato ferro-peptídeos.

O teor de ferro do quelato ferro-peptídeos foi de 61,34 mg/g. Os resultados de DSC indicaram mudanças nos eventos térmicos observados comparativamente entre caseína hidrolisada e o quelato formado. Junto com os resultados obtidos no IVTF é possível afirmar que ocorreu uma ligação de coordenação entre os íons  $Fe^{3+}$  e os grupos carboxílicos dos peptídeos da caseína. Nenhum evento térmico de fusão foi observado para o quelato ferro-peptídeos, indicando ausência de cristalinidade.

As propriedades de fluxo do pó variaram entre boas e regulares, o que pode ser confirmado pelo índice de compactação de Carr (23,81%), fator de Hausner (1,312) e ângulo de repouso (37,74°). As forças coesivas eram fracas e as forças adesivas eram mais intensas de acordo com a granulometria do quelato. A granulometria predominante das partículas do quelato era de 180  $\mu m$  (tamis 80). Esta granulometria refletiu nos resultados de higroscopicidade em função da maior área de superfície, o que refletiu em alta higroscopicidade do pó.

Os comprimidos obtidos por compactação usando técnica por via direta, foram preparados utilizando punção oblongo com 8 mm de largura por 12 mm de comprimento, e compactadora rotativa de 8 estações. Uma pré-mistura de excipientes selecionados a partir dos resultados da micromerítica foi utilizado para fabricação dos comprimidos. O lubrificante, estearato de magnésio, foi adicionado à formulação e homogeneizado antes da compactação. O teor de ferro encontrado nos comprimidos foi de 56,8 mg/g.

Os resultados obtidos na espectroscopia de infravermelho realizada após a fabricação dos comprimidos sugere que o processo de fabricação não altera as características químicas do quelato peptídeo-ferro presente nos comprimidos. As bandas de absorção atribuídas às vibrações dos grupos  $COO^-$  (1631  $cm^{-1}$  e 1402  $cm^{-1}$ ), das ligações NH dos grupamentos amida (1454  $cm^{-1}$ ) e da ligação coordenada entre os íons  $Fe^{3+}$  e os peptídeos da caseína (1043  $cm^{-1}$  e 1001  $cm^{-1}$ ), descritos por Chaud *et al.* (2002), foram observadas nos espectros da caseína hidrolisada, do quelato e dos comprimidos.

Os comprimidos submetidos aos ensaios físicos apresentaram peso médio de 0,685±0,0306g e coeficiente de variação de 4,46%. O resultado do teste de dureza foi de 12,25 Kg. No teste de friabilidade, a porcentagem de perda de massa foi de 0,072%. Os resultados estão em conformidade com a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010), que determina que o coeficiente de variação de comprimidos com peso médio  $\geq 250$  mg podem ter até 5,0% de variação na massa. Os resultados de dureza e friabilidade também estão em conformidade com a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010), que determina que a dureza deva ser  $\geq 3$  kg e a friabilidade  $< 1,5\%$ . Os resultados mostram que o comprimido apresenta baixa porosidade e boa resistência. O aspecto físico dos comprimidos apresentou uniformidade de coloração e ausência de deformidades de superfície (*capping* ou laminação).

O tempo de desintegração dos comprimidos superior a 60 minutos pode ser atribuído ao líquido de imersão (água purificada) utilizado no teste, o qual é determinado na Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010). O elevado tempo de desintegração pode estar relacionado ao resultado de friabilidade (baixa porosidade dos comprimidos), o que dificulta a absorção de água. Lubrificantes hidrofóbicos também podem aumentar o tempo de desintegração.

Devido ao fato de a desintegração ter ocorrido em tempo superior a 60 minutos, foi necessário avaliar o perfil de liberação do ferro. Os resultados obtidos no perfil de liberação mostram um tempo de retenção entre 5 e 30 minutos. Após esse tempo, o ferro foi rapidamente liberado coincidindo com a desintegração do comprimido em HCl 0,1 N (dados não mostrados). Assim, a liberação do ferro dos comprimidos ocorreu num período de 120 minutos.

### Conclusões:

A técnica utilizada é adequada para obtenção do quelato ferro-peptídeos. Contudo, o controle do pH do meio de reação é fundamental para alcançar a coordenação dos íons ferro na cadeia dos peptídeos que

compõem a caseína hidrolisada.

Nenhuma incompatibilidade química pode ser observada na formulação dos comprimidos. As características físico-químicas do quelato peptídeo-ferro mantiveram-se inalteradas durante o processo de fabricação dos comprimidos, quando comparado com o quelato ferro-peptídeo em pó e a caseína hidrolisada.

Os resultados apresentados nos testes físicos e físico-químicos do comprimido, tais como peso médio, dureza, friabilidade e homogeneidade de superfície mostraram que os comprimidos obtidos com quelato ferro-peptídeo estão em conformidade com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010).

O estudo de dissolução está relacionado com as propriedades biofarmacotécnicas esperadas para formas farmacêuticas de comprimidos. Os resultados obtidos mostram que a liberação do ferro ocorre num período de 120 minutos, esse fator é relevante, uma vez que o ferro é melhor absorvido no duodeno proximal, após liberação/dissolução no meio estomacal.

Com base nos resultados deste estudo e valor biológico do quelato ferro-peptídeos descrito por Chaud *et al.* (2002), sugere que os comprimidos obtidos são uma alternativa para o tratamento da anemia ferropriva.

### Referências bibliográficas

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed., v. 1. Brasília: Anvisa, 2010, 546 p.

CAMASCHELLA, C. Iron-Deficiency Anemia. **New England Journal of Medicine**. V. 327, n. 19, p. 1832-1843, mai. 2015.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONI, C. S. Anemia ferropênica no adulto – causas, diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. V. 32, n. 3, p. 240-246, 2010.

CANÇADO, R. D.; LOBO, C.; FRIEDRICH, J. R. Tratamento da anemia ferropriva com ferro por via oral. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. V. 32, n. Supl 2, p. 114-120, 2010.

CHAUD, M. V. et al. Iron Derivatives from Casein Hydrolysates as a Potential Source in the Treatment of Iron Deficiency. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V. 50, n. 4, p. 871-877, 2002.

COUTINHO, G. G. P. L.; GOLONI-BERTOLLO, E. M.; BERTELLI, E. C. P. Iron Deficiency Anemia in Children: A Challenge For Public Health and For Society. **Sao Paulo Medical Journal**. V. 123, n. 2, São Paulo, p. 88-92, mar. 2005.

RIBEIRO, L. C.; SIGULEM, D. M. Tratamento da anemia ferropriva com ferro quelato glicinato e crescimento de crianças na primeira infância. **Revista de Nutrição**. V. 21, n. 15, Campinas, p. 483-390, set./out. 2008.

SMIALOWSKA, A.; MATIA-MERINO, L.; CARR, A. J. Assessing the iron chelation capacity of goat casein digest isolates. **Journal of Dairy Science**. V. 100, n. 4, p. 1-11, 2017.