

## APLICAÇÃO DE DIFERENTES MODELOS CINÉTICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DO METOTREXATO EM MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS A BASE DE ÁCIDO POLI LÁTICO-CO-GLICÓLICO.

Marina Micaelle Rodrigues Siqueira<sup>1\*</sup>, Monalisa Castro Teixeira<sup>1</sup>, Alice Rodrigues de Oliveira Araruna<sup>2</sup>, Arnóbio Antônio da Silva Júnior<sup>3</sup>

1. Estudante de Farmácia, Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte/CE
2. Docente da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte/CE
3. Docente da Universidade Federal do Rio Grande do Norte/RN

### Resumo:

Micropartículas (Mp) de ácido poli lático-co-glicólico (PLGA) vem sendo uma crescente estratégia para aperfeiçoar a eficiência terapêutica de diversos fármacos. Assim, este trabalho foi desenvolvido para avaliar o perfil de liberação *in vitro* adotado pelo Metotrexato quando incorporado a micropartículas de PLGA. As Mp de PLGA contendo MTX foram obtidas por um mini spray dryer em diferentes proporções fármaco/polímero. O estudo de liberação *in vitro* foi realizado em tampão fosfato pH 7,4 0,05 M, mantido em banho termoeletrizado 37°C ± 0,2°C utilizando espectrofotometria UV-VIS para quantificar o teor de fármaco liberado. A análise do teor de fármaco liberado foi submetida a diferentes modelos cinéticos de liberação: Ordem zero, Primeira Ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas, tendo este último evidenciado o perfil cinético de liberação. Portanto as Mp de PLGA contendo MTX apresentaram perfil de liberação modificada representado pelo modelo de Korsmeyer-Peppas.

**Palavras-chave:** Micropartículas de PLGA, Metotrexato, Cinética de Liberação.

**Apoio financeiro:** CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

### Introdução:

Novas tecnologias como a micro e nanotecnologia vêm sendo extensivamente desenvolvidas como alternativa para aperfeiçoar a ação farmacológica e minimizar os efeitos tóxicos severos de fármacos, na tentativa de aumentar o índice de sucesso do tratamento e a qualidade de vida de pacientes submetidos à quimioterapia (FORMARIZ *et al.*, 2007; 2008).

Entre os fármacos quimioterápicos, o metotrexato (MTX) assume um lugar especial como antineoplásico. Além de apresentar também resultados promissores na terapia da psoríase, como imunossupressor no transplante de órgãos e de medula óssea alogênica, bem como no tratamento da artrite reumatóide (CHABNER, 2004; MARTINS, 2004, PEREIRA, 2009; DALRYMPLE, 2008), e, em oftalmologia, no tratamento de uveítes não inflamatórias resistentes aos corticosteróides (SCHIMID *et al.*, 2006).

No entanto, a rápida eliminação plasmática do MTX limita seu sucesso terapêutico uma vez que o tempo de exposição do tumor ao fármaco é reduzido, o que compromete sua eficácia, solicitando assim a administração de doses mais elevadas, causando potencialmente efeitos colaterais severos como a depressão medular, a colite ulcerativa, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (OFNER III *et al.*, 2006).

Na tentativa de minimizar esse tipo de limitação, os sistemas de liberação de fármacos (SLFs) para ação prolongada podem ser desenvolvidos, nos quais o fármaco é liberado de forma a manter a concentração plasmática em níveis terapêuticos por período de tempo adequado (KAKIZWA, 2009).

Entre os diversos SLFs para a ação prolongada de fármacos, as micropartículas têm sido bastante utilizadas (SCHAFFAZICK, 2003), e como polímero para concepção das micropartículas, o ácido poli-lático-co-glicólico

(PLGA) tem gerado interesse devido às suas propriedades favoráveis de biocompatibilidade e biodegradabilidade (SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2009; PAGANELLI *et al.*, 2010).

O presente trabalho, portanto, foi desenvolvido para avaliar o perfil de liberação *in vitro* adotado pelo MTX após desenvolvimento e obtenção de micropartículas de PLGA contendo o referido fármaco.

### Metodologia:

As micropartículas de PLGA contendo o fármaco foram obtidas por um mini spray dryer Buchi-191 em diferentes proporções fármaco/polímero (9, 18 e 27% m/m). Para avaliação do perfil de liberação *in vitro*, as diferentes micropartículas foram suspensas em 4 mL de solução tampão fosfato (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,05 mol/L, pH 7,4) em banho termostatizado (modelo SL- 150/22 Solab) a 37 °C ± 0,2 °C. Em intervalos de tempo pré-determinados, os tubos foram centrifugados a 1000 g durante 15 minutos e o sobrenadante foi removido, filtrado em membrana de acetato de celulose 0,45 µm (Sartorius Stedim) e a concentração de MTX foi determinada analiticamente pela espectrofotometria UV-Vis a 303 nm (metodologia previamente validada). Novo volume de solução tampão foi adicionado aos tubos, os quais foram mantidos no banho termostatizado até o próximo tempo de coleta. Todas as análises foram realizadas em sextuplicata (n = 6). A porcentagem acumulada do MTX liberado foi plotado versus o tempo. O perfil cinético de liberação envolvido foi investigado mediante aplicação de modelos matemáticos específicos tais como: ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas. A constante da velocidade de liberação (k) e o coeficiente de correlação (r) foram calculados para os diferentes modelos.

### Resultados e Discussão:

A cinética de liberação de cada formulação foi obtida a partir dos resultados obtidos do perfil de dissolução os quais foram submetidos aos modelos matemáticos específicos. Os modelos cinéticos aplicados foram o de ordem zero, primeira-ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas. De acordo com os dados obtidos após a aplicação dos modelos matemáticos e submeter os dados à regressão linear, o modelo de Korsmeyer e

Peppas foi o que apresentou maior coeficiente de correlação (r = 0,99 para sistema 27%; r = 0,95 para sistema 18% e r = 0,94 para sistema 9% m/m – MTX/PLGA), indicando que a cinética de liberação do MTX a partir das micropartículas PLGA segue este modelo.

O modelo de Korsmeyer e Peppas foi desenvolvido em 1983 e pode ser representado pela expressão:  $M_t/M_\infty = kt^n$ , onde *k* representa uma constante cinética que incorpora as características estruturais e geométricas da forma de liberação controlada, *n* é o chamado expoente de liberação para a liberação do fármaco e  $M_t/M_\infty$  é a fração do fármaco liberada ao longo do tempo *t*. O valor de *n* é igual a 0,45 para processos controlados por difusão (modelo de Fick), enquanto que valores de *n* entre 0,45 e 1,0 indicam um transporte anômalo não Fickniano. Este modelo é geralmente usado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando possa estar envolvido mais de um tipo de liberação (COSTA, 2002; VENDRUSCULO, 2005; MELO, 2010). De acordo com os dados experimentais, foi observado valor de *n* = 0,51 para as Mp 9% m/m; *n* = 0,38 para as Mp 18% m/m e *n* = 0,71 para as Mp 27% m/m. Com exceção das micropartículas 18% (que apresentam valor de *n* característico de partículas porosas), os demais sistemas microparticulados assumiram valor de *n* entre 0,45 e 1,0 caracterizado pelo transporte anômalo não Fickniano.

### Conclusões:

Portanto, o presente trabalho permitiu avaliar o perfil cinético de liberação adotado pelas micropartículas de PLGA contendo MTX. Vale ressaltar que esta elucidação é muito importante, pois permite obter a constante de velocidade e a partir desta calcular a quantidade de fármaco liberada em determinada unidade de tempo, fator fundamental para estabelecer uma posologia visto a possibilidade que esta abordagem apresenta em ser realizado também em estudos *in vivo*.

## Referências bibliográficas

- CHABNER, B. A.; RYAN, D. P.; PAZ-ARES, L.; GARCIA-CARBONERO, R.; CALABRESI, P. Antineoplásicos. In: GILMAN, Alfred Goodman, et al. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro, Mc Grow-Hill, 10ª ed. pag. 1049 – 1051, 2004.
- DALRYMPLE, J. M.; STAMP, L. K.; O'DONNELL, J. L. CHAPMAN, P. T.; ZHANG, M. Pharmacokinetics of Oral Methotrexate in Patients with Rheumatoid Arthritis. **Arthritis & Rheumatism.**, vol. 58, n. 11, p. 3299 – 3308. 2008.
- FORMARIZ, T.P.; CHIAVACCI, L.A.; SARMENTO, V.H.V.; FRANZINI, C.M.; SILVA-JR, A.A.; SCARPA, M.V.; SANTILLI, C.V.; EGITO, E.S.T.; OLIVEIRA, A.G. Structural changes of biocompatible neutral microemulsions stabilized by mixed surfactant containing soya phosphatidylcholine and their relationship with doxorubicin release, **Colloids Surf. B: Biointerfaces**, v. 63, p. 287-295, 2008.
- KAKIZAWA, Y.; NISHIO, R.; HIRANO, T.; KOSHI, Y.; NUKIWA, M.; KOIWA, M.; MICHIZOE, J.; IDA, N. Controlled release of protein drugs from newly amphiphilic polymer-based microparticles composed of nanoparticles. **Jornal of Controlled Release** (2009), doi: 10. 1016/j.jconrel.2009.09.024.
- MARTINS, G. A.; ARRUDA, L. Tratamento sistêmico da psoríase – Parte I: metotrexato e acitretina. **An Bras. Dermatol.**, vol. 79, n. 3, p. 263 – 278. 2004.
- OFNER III; C.M.; PICA, K.; BOWMAN, B.J.; CHEN, C.-S. Growth inhibition, drug load, and degradation studies of gelatin/methotrexate conjugates **Int. J. Pharm.** n. 308, p. 90-99, 2006.
- PAGANELLI, F. CARDILLO, J. A.; DARE, A. R. J. *et al.* Controlled transscleral drug delivery formulations to the eye: establishing new concepts and paradigms in ocular anti-inflammatory therapeutics and antibacterial prophylaxis. **Expert Opinion on Drug Delivery**, vol. 7, n. 8, p. 955 -965. 2010.
- PEREIRA, A.; CRUZ, B. A.; XAVIER, R. M.; PINHEIRO, G. R. C.; TITTON, D. C.; GIORGI, R. D. N.; ROCHA, F. A. C.; LAURINDO, I. M. M.; BÉRTOLO, M. B.; DOUGADOS, M. Recomendações nacionais baseadas em evidências científicas e opiniões dos especialistas sobre o uso do metotrexato nas doenças reumáticas, especialmente na artrite reumatóide. Resultados da iniciativa 3 E do Brasil. **Rev. Bras. Reumatol.**, vol. 49, n. 4, p. 346 – 361. 2009.
- SCHMID, K.E.; KORNEK, G.V.; SCHEITHAUER, W.; BINDER, S. Update on Ocular Complications of Systemic Cancer Chemotherapy. **Surv. Ophthalmol.**, v. 51, p. 19-40, 2006.
- SILVA-JUNIOR, A.A. Micropartículas de ácido poli láctico-co-glicólico obtidos por “spray drying” para liberação prolongada intra-ocular de fármacos, 2008. **Tese apresentada para obtenção do título de doutor em ciências farmacêuticas** – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.
- VENDRUSCOLO, C. W.; ANDREAZZA, I. F.; GANTER, J. L. M. S. FERRERO, C.; BRESOLIN, T. M. B. Xanthan and galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 296, p. 1 – 11. 2005.