

PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DE DICLOFENACO DE SÓDIO INCORPORADO EM PARTÍCULAS DE SERICINA E ALGINATO

M. E. NAKASHIMA¹, J. M. VIDART¹, M. G. C. DA SILVA¹ e M. G. A. VIEIRA¹

¹Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química
E-mail para contato: melissagav@feq.unicamp.br

RESUMO – Este trabalho teve como finalidade estudar a incorporação do fármaco diclofenaco de sódio em uma matriz formada pelos polímeros sericina (obtido do casulo do bicho-da-seda) e alginato (obtido comercialmente). Foram produzidas 3 formulações de partículas, as quais já haviam obtido porcentagens de incorporação altas em estudos anteriores, com diferentes proporções de sericina, alginato e fármaco. Essas partículas foram submetidas a ensaios de liberação em meio gástrico e entérico simulados, apresentando gastrorresistência das partículas e liberação controlada do fármaco devido, principalmente, à presença do alginato e da sericina, respectivamente. Ademais, foram aplicados diferentes modelos matemáticos à curva de liberação em meio tamponado pH 6,8, sendo que o Modelo de Weibull foi o que apresentou melhores resultados (R^2_{aj} próximo de 1 e menores valores de Critério de Informação de Akaike) em comparação com os demais ajustes.

1. INTRODUÇÃO

O casulo do bicho-da-seda é composto por duas principais proteínas: a fibroína e a sericina. A fibroína é utilizada nas indústrias de fiação de seda, enquanto a sericina é tratada como resíduo desse processo. Quando isolada, a sericina apresenta característica de gel; contudo, quando misturada com outros polímeros, obtém-se um material que pode ser aplicado em diversas áreas, como a de cosmético e de fármaco (Aramwit *et al.*, 2012).

O alginato é um polissacarídeo derivado das algas marinhas, sendo caracterizado por sua gastrorresistência, o que o torna favorável para a incorporação de substâncias que são sensíveis a esse meio (SINHA *et al.*, 2015). Desta forma, a formação de uma blenda entre a sericina e alginato torna-se interessante, uma vez que resulta em uma matriz adequada para a incorporação de fármacos.

O diclofenaco de sódio é um medicamento amplamente utilizado no tratamento de artrite reumatoide e osteoartrite. Por possuir uma meia-vida de 1-2 h, este fármaco requer múltiplas dosagens, causando efeitos adversos como gastrite e úlcera peptídica (Nayak e Pal, 2011). Assim, torna-se vantajosa a formulação de uma matriz, para a sua incorporação, que seja gastrorresistente.

O presente estudo teve como objetivo a preparação da blenda entre a sericina e o alginato, para a incorporação do fármaco diclofenaco de sódio. Avaliou-se os processos de

liberação deste fármaco em meio gastrointestinal simulado, bem como o ajuste matemático que melhor representava a liberação deste fármaco em solução de tampão fosfato pH 6,8.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Processo de Extração da Sericina

Os casulos do bicho-da-seda foram obtidos da empresa de fiação de seda BRATAC. Eles foram abertos, limpos manualmente, cortados em pequenos pedaços e lavados. Após o processo de secagem dos casulos em estufa a 50 °C, por cerca de 12 h, os mesmos foram deixados em dessecadores de sílica-gel para resfriarem. A partir dos estudos de Tomadon Jr. (2011), adotou-se o método mais eficiente de extração, o qual ocorre em autoclave na pressão manométrica de 1 kg_f.cm⁻² e temperatura de 120 °C durante 40 min. Utilizou-se uma proporção de 40 g de casulos secos para 1 L de água deionizada. A solução obtida foi armazenada em recipiente fechado a temperatura ambiente por 12 h e, posteriormente, foi disposta em congelador convencional durante 24 h. Após esse período, a solução foi descongelada, filtrada em papel filtro com porosidade de 14 µm e sua concentração foi ajustada para 2,5 % (m/v).

2.2. Formulação das Partículas

Vidart *et al.* (2016) estudaram quatro formulações variando a proporção de sericina e alginato para a incorporação de diclofenaco de sódio. O presente trabalho procedeu-se à análise da liberação *in vitro* de três dessas formulações, apresentadas na Tabela 1, e que obtiveram melhores características morfológicas e eficiências de incorporação satisfatórias no estudo prévio.

Tabela 1 - Composição e eficiência de incorporação de cada formulação preparada

Formulação	Sericina (g)	Alginato (g)	Diclofenaco de sódio (g)	Eficiência de incorporação (%)
DS1	2,5	2,6	2,0	82,5
DS2	2,5	3,3	2,0	77,9
DS3	-	4	2,0	75,5

2.3. Liberação do Fármaco em Meios Simulados

O teste de liberação *in vitro* do fármaco foi realizado conforme monografia do diclofenaco de sódio, apresentada pela Farmacopéia Brasileira. Sendo assim, para simular o meio gástrico, uma quantidade de partículas equivalente a 50 mg de diclofenaco de sódio foi colocada em contato com 900 mL de ácido clorídrico 0,1 M (pH 1,2) durante 2 h, em aparelho dissolutor de cestos, Logan modelo UDT-814-6, a 37 ± 0,5 °C e agitação de 50 rpm. Após esse período, uma alíquota de 5 mL foi coletada para determinar a quantidade de fármaco liberado, por meio da medição de absorbância em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV mini 1240, no comprimento de onda de 276 nm.

Após 2 h de ensaio em meio ácido, as partículas foram recuperadas dos cestos e colocadas em contato com 900 mL de tampão fosfato pH 6,8 (simulação do meio entérico) por 10 h, em aparelho dissolutor de cestos nas mesmas condições em que o teste em meio ácido foi conduzido. Alíquotas de 5 mL foram coletadas, com reposição de meio de dissolução, em intervalos de tempo pré-determinados, para a determinação da concentração de fármaco liberado, por espectrofotometria UV-visível a 276 nm.

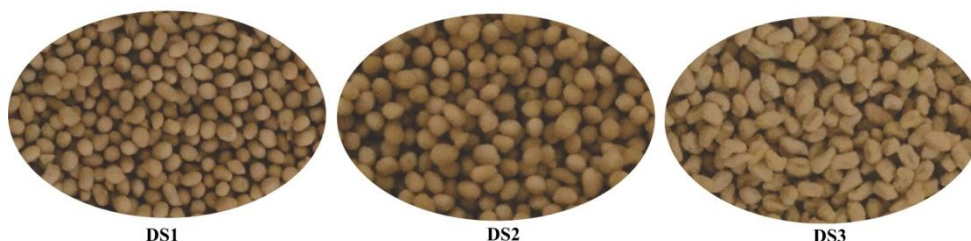
2.4. Cinética e Modelagem da Liberação do Fármaco

Os modelos de ordem zero, primeira ordem, Weibull, Higuchi, Korsmeyer-Peppas e Hopfenberg para sistemas cilíndricos e esféricos foram aplicados aos dados da dissolução de diclofenaco de sódio usando o software Maple®, sendo que os ajustes foram analisados pelo coeficiente de determinação (R^2_{aj}) e pelo critério de informação de Akaike (AIC). Os melhores ajustes possuem o coeficiente de determinação próximo de 1 e o menor valor de AIC.

3. RESULTADOS

A partir da Figura 1, percebe-se que as formulações DS1 e DS2 possuem uma maior esfericidade, quando comparadas com a formulação sem sericina DS3, que apresenta formato irregular. Tal fato indica a importância da presença da sericina na formulação para obter uma maior esfericidade das partículas.

Figura 1 - Partículas das três formulações produzidas.



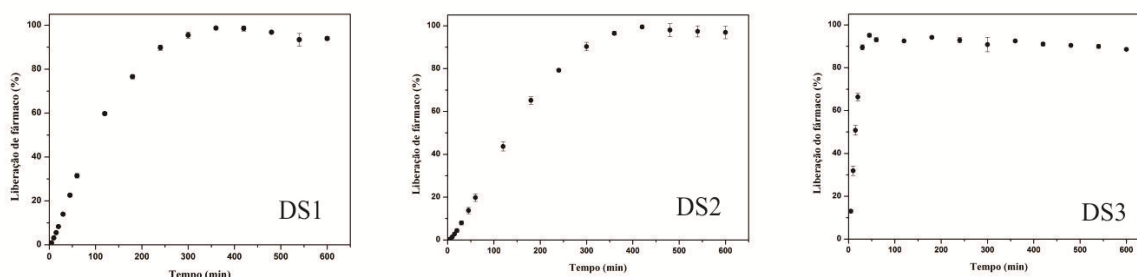
A Tabela 2 mostra os resultados obtidos no processo de dissolução em meio gástrico simulado. Os dados apresentados indicam que quanto maior a quantidade de alginato na formulação, menor é a quantidade de fármaco liberado nesse meio, ou seja, maior é a sua gastrorresistência. Ademais, segundo a Farmacopeia Brasileira, é permitido uma liberação de até 10 % em meio ácido, indicando que os resultados obtidos são aceitáveis.

Tabela 2 - Porcentagem de liberação em meio ácido

Formulação	Liberação de fármaco (%)
DS1	2,63 ± 0,66
DS2	1,92 ± 0,36
DS3	1,49 ± 0,26

A Figura 2 apresenta os perfis de dissolução das partículas em meio entérico simulado, sendo que as formulações DS1 e DS2 apresentaram uma total liberação entre 240-300 min, enquanto que o DS3 possui uma liberação mais acelerada, em 45 min. Dessa forma, evidencia-se a importância da sericina na composição da partícula como um material que ajuda a retardar o processo de liberação do diclofenaco de sódio, tornando-o mais controlado e, conseqüentemente, minimizando os efeitos colaterais causados pelo fármaco.

Figura 2 - Perfil de liberação em meio entérico simulado.



Na Tabela 3 constam os resultados obtidos, em que os modelos matemáticos de ordem zero, primeira ordem, Weibull, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hopfenberg para sistemas cilíndricos ($n=2$) e Hopfenberg para sistemas esféricos ($n=3$) foram analisados. Conforme valores destacados, tem-se que o modelo de Weibull foi o que apresentou melhores ajustes para todas as formulações, uma vez que os valores de R^2_{aj} possuem os valores mais próximos de 1 e os valores de AIC são os menores em comparação com os demais. Ademais, obteve-se um valor do parâmetro de forma b maior de 1, caracterizando a curva como sigmoide, em forma de "S", com curvatura para cima seguida de um ponto de inflexão (Costa e Lobo, 2001).

Entre os resultados obtidos para o modelo de ordem zero, tem-se que a formulação DS3 obteve o pior ajuste, uma vez que sua hipótese é baseada na liberação de fármaco de maneira lenta e, como visto no perfil de dissolução obtido, esta formulação não teve uma liberação controlada como as demais. O modelo de Hopfenberg para sistema cilíndrico e esférico apresentou bons ajustes para todas as formulações, indicando que a liberação do fármaco é influenciada pelo processo de erosão, o qual é limitante desta ação. O modelo que apresentou o pior ajuste para todas as formulações foi o de Higuchi, o qual assume que o processo de difusão baseia-se na Lei de Fick, portanto, a liberação do diclofenaco de sódio incorporado à matriz de sericina e alginato não segue este princípio. Tal fato é reiterado pelos resultados obtidos para o Modelo de Korsmeyer-Peppas, visto que os valores de n (parâmetro de caracterização do mecanismo de liberação) estão entre 0,5 e 1,0, indicando que se trata de um processo de transferência de massa não-Fickiano (Costa, 2002).

Tabela 3 - Modelagem matemática para a liberação de diclofenaco de sódio em solução tampão fosfato pH = 6,8

Formulações	Parâmetros	Modelos						
		Ordem zero	Primeira ordem	Weibull	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hopfenberg; n = 2	Hopfenberg; n = 3
DS1	k	0,3706	0,0074	-	5,1394	1,3055	0,0028	0,0021
	n	-	-	-	-	0,7671	-	-
	a	-	-	542,55	-	-	-	-
	b	-	-	1,2935	-	-	-	-
	R ² _{aj}	0,9101	0,9509	0,9991	0,7226	0,9496	0,9924	0,9873
	AIC	74,17	63,22	21,88	81,17	66,12	44,71	49,53
DS2	k	0,3002	0,0055	-	4,5118	0,5997	0,0021	0,0016
	n	-	-	-	-	0,8763	-	-
	a	-	-	2234,54	-	-	-	-
	b	-	-	1,4941	-	-	-	-
	R ² _{aj}	0,9520	0,9027	0,9993	0,6421	0,9574	0,9759	0,9585
	AIC	73,43	78,33	22,44	93,44	71,77	63,16	69,09
DS3	k	2,5551	0,0507	-	13,92	7,3167	0,0199	0,0144
	n	-	-	-	-	0,6969	-	-
	a	-	-	91,72	-	-	-	-
	b	-	-	1,5378	-	-	-	-
	R ² _{aj}	0,7797	0,8175	0,9939	0,6193	0,8144	0,9537	0,9271
	AIC	43,07	36,72	19,40	41,24	39,37	30,02	32,11

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados, evidenciou-se a importância da sericina para a esfericidade das partículas. Ademais, o teste de dissolução em meios simulados indicou a gastrorresistência das partículas, devido, principalmente, à presença do alginato na composição, bem como a importância da sericina para uma liberação mais controlada do

diclofenaco de sódio em meio tamponado. Os resultados dos ajustes dos modelos matemáticos apresentou melhores resultados para o modelo de Weibull, devido aos valores de R^2_{aj} e AIC serem os mais próximos do ideal.

Agradecimentos

Os autores agradecem à BRATAC pelo fornecimento dos casulos, Geolab[®] Indústria Farmacêutica S/A pelo fornecimento do diclofenaco de sódio, CNPq (Proc. 470615/2013-3 e 300986/2013-0), CAPES e FAPESP (Proc. 2015/13505-9) pelo suporte financeiro.

5. REFERÊNCIAS

- ARAMWIT, P.; SIRITIENTONG, T.; SRICHANA, T. Potential applications of silk sericin, a natural protein from textile industry by-products. *Waste management and Research*, v. 30, p. 217-224, 2012.
- COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceuticals Science*, v. 13, p. 123-133, 2001.
- COSTA, P. J. C. Avaliação *in vitro* da bioequivalência de formulações farmacêuticas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 2, abr./jun., 2001.
- NAYAK, A. K.; PAL, D. Development of pH-sensitive tamarind seed polysaccharide–alginate composite beads for controlled diclofenac sodium delivery using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.49, p.784-793, 2011.
- SINHA, P.; UBAIDULLA, U.; HASNAIN, M. S.; NAIK, A. K.; RAMA, B. Alginate-okra gum blend beads of diclofenac sodium from aqueous template using ZnSO₄ as a cross-linker. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 79, p. 555-563, 2015.
- TOMADON JR, J. Obtenção da proteína sericina, com alta massa molecular, a partir de casulos *Bombyx mori*. *Paraná: Universidade Estadual de Maringá, Dissertação (Mestrado)*, p. 172, 2011.
- VIDART, J. M. M.; NAKASHIMA, M.; SILVA, T. L.; ROSA, P. C. P.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Sericin and Alginate Blend as Matrix for Incorporation of Diclofenac Sodium. *Chemical Engineering Transactions*, v. 51, p. 343-348, 2016.