



Avaliação do aumento da solubilidade aquosa do praziquantel incorporado em microesferas de poli(3-hidroxi-butirato) e Eudragit® E

Giovana Carolina Bazzo*, Gabriela Tambosi, Elizabeth Cristina Brüske, Melissa Zétola e Bianca Ramos Pezzini

Departamento de Farmácia, Universidade da Região de Joinville, Rua Paulo Malschitzki, 10, 89219-710, Joinville, Santa Catarina, Brasil.
*Autor para correspondência. E-mail: gbazzo@uol.com.br

RESUMO. O praziquantel é o fármaco de escolha no tratamento da esquistossomose, porém, sua baixa solubilidade aquosa pode comprometer sua biodisponibilidade por via oral. Neste trabalho o praziquantel foi incorporado em microesferas de poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) e Eudragit® E pela técnica de emulsão- evaporação do solvente, com o intuito de melhorar sua solubilidade aquosa. As micropartículas preparadas com PHB apresentaram forma esférica e eficiência de encapsulação do fármaco de 78%. Quando preparadas com Eudragit® E/PHB na proporção de 50/50, apresentaram-se porosas e com eficiência de encapsulação de 42%. As microesferas preparadas com os polímeros na proporção de 75/25 apresentaram-se mais porosas que as anteriores e com 52% de praziquantel encapsulado. Ensaio de dissolução *in vitro* demonstraram melhora significativa na solubilidade aquosa do praziquantel incorporado às microesferas de Eudragit® E/PHB 75/25. O aumento da solubilidade está associado à elevada porosidade das microesferas e ao emprego do Eudragit® E como carreador hidrofílico.

Palavras-chave: microencapsulação, fármacos pouco solúveis.

Evaluation of enhanced aqueous solubility of praziquantel incorporated in poly (3-hydroxybutyrate) and Eudragit® E microspheres

ABSTRACT. Praziquantel is the drug of choice for the treatment of schistosomiasis, however, its low water solubility may undermine the oral bioavailability. In this study, praziquantel was incorporated into microspheres prepared with poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) and a polymethacrylate (Eudragit® E), using an emulsion-solvent evaporation method, in order to improve its aqueous solubility. Microparticles prepared with PHB had spherical shape and encapsulation efficiency of 78%. When prepared with Eudragit® E/PHB at a ratio of 50/50 the microspheres were porous and encapsulated 42% of the drug, and for a ratio of 75/25 the microspheres were more porous than those of the previous formulations, with an encapsulation efficiency of 52%. Dissolution *in vitro* led to a significant improvement in the aqueous solubility of praziquantel incorporated into Eudragit® E/PHB 75/25 microspheres. This increased solubility is linked to the high porosity of the microspheres and the use of Eudragit® E as a hydrophilic carrier.

Keywords: microencapsulation, low solubility drug.

Introdução

A esquistossomose é uma doença que afeta milhares de pessoas no Brasil e no mundo, enquadrada no grupo das denominadas doenças negligenciadas, as quais recebem pouco investimento financeiro em pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos (KATZ; PEIXOTO, 2000). O fármaco de escolha efetivo contra espécies de *Schistosoma* é o praziquantel (JESUS et al., 2006; SWEETMAN, 2002) que possui efetividade pela sua capacidade de impedir o metabolismo da glicose pelo parasita, afetando seu metabolismo (SILVA, 2002). O praziquantel é um fármaco altamente lipofílico, que apresenta baixa solubilidade aquosa (0,4 mg mL⁻¹).

É extensamente absorvido pelo trato gastrointestinal, contudo, são necessárias altas doses por via oral, para superar o metabolismo de primeira passagem e assim atingir concentrações suficientes de fármaco no tecido larval (CHENG et al., 2009; SWEETMAN, 2002).

Muitos fármacos administrados por via oral, como o praziquantel, apresentam baixa solubilidade em meio aquoso e podem ter a sua biodisponibilidade oral comprometida, pois a sua dissolução nos líquidos biológicos é dificultada, sendo essa uma etapa anterior e necessária para que ocorra a absorção e, conseqüentemente, o efeito terapêutico desejado (SANT et al., 2005; WONG et al., 2006). Desta forma, diversas estratégias vêm sendo estudadas e empregadas para melhorar a

solubilidade do praziquantel, como a sua incorporação em microesferas de Gelucire® 50/13 (PASSERINI et al., 2006). Outros estudos demonstraram que a solubilidade em água do praziquantel foi melhorada formando complexos do fármaco com ciclodextrinas (BECKETT et al., 1999; JESUS et al., 2006) e dispersões sólidas com polivinilpirrolidona (EL-ARINI; LEUENBERGER, 1998).

A microencapsulação é uma técnica que envolve a encapsulação de partículas, solução ou suspensão do fármaco num revestimento polimérico. Alguns trabalhos vêm demonstrando que a incorporação de dispersões sólidas de fármacos pouco solúveis em micropartículas poliméricas pode ser utilizada como alternativa para melhorar a solubilidade desses fármacos (WONG et al., 2006).

Os polimetacrilatos, conhecidos comercialmente como Eudragit® (Röhm Pharma), são polímeros amplamente utilizados na indústria farmacêutica e aprovados para uso por via oral. O Eudragit® E é um polímero catiônico composto de dimetilaminoetil metacrilato e outros ésteres neutros do ácido metacrílico, comumente utilizado como revestimento de formas farmacêuticas sólidas para proteção do fármaco e mascaramento de gosto desagradável (QUINTEROS et al., 2008). Este polímero, na sua forma não-protonada, é solúvel em solventes orgânicos e insolúvel em água. Os grupos amino terciários são ionizados em condições ácidas tornando o polímero solúvel em pH menor que 5 (EERIKÄINEN et al., 2004; MOUSTAFINE et al., 2005). Outro polímero que é empregado no preparo de micropartículas é o poliéster poli(3-hidroxi-butirato) [PHB]. A biodegradabilidade e a biocompatibilidade são as principais propriedades do PHB que possibilitam a sua utilização na área farmacêutica (CHEN; WU, 2005).

Neste trabalho propôs-se promover a melhoria da solubilidade aquosa do praziquantel utilizando uma técnica até então pouco utilizada para esta finalidade, que é a microencapsulação. O fármaco foi incorporado em microesferas preparadas com os polímeros PHB e Eudragit® E, com o objetivo de verificar a influência do tipo e da proporção entre os polímeros sobre o aumento da solubilidade aquosa do praziquantel.

Material e métodos

O praziquantel foi adquirido da Attivos Magistrais (São Paulo, Estado de São Paulo). O poli(3-hidroxi-butirato) foi gentilmente cedido pela PHB Industrial (Serrana, Estado de São Paulo) e o Eudragit® E pela Almapal S.A. (São Paulo,

Estado de São Paulo). Foram utilizados clorofórmio, diclorometano e ácido clorídrico p.a. (Biotec) e poli(álcool vinílico) adquirido da Vetec Química (Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro).

Obtenção das microesferas

As microesferas foram obtidas por meio do método de emulsão e evaporação do solvente óleo em água (O/A), que consistiu em dissolver 200 mg de praziquantel e 500 mg dos polímeros em 10 mL de diclorometano e posteriormente emulsificar em 200 mL de uma solução aquosa contendo 0,15% (p/v) de poli(álcool vinílico), em agitação de 700 rpm. Após a evaporação do diclorometano, as microesferas foram lavadas com água destilada, decantadas e secas à temperatura ambiente.

Foram elaboradas três formulações, empregando-se diferentes proporções de PHB e Eudragit® E, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Proporção de PHB e Eudragit® E utilizados nas formulações de microesferas para incorporação do praziquantel, totalizando 500 mg de polímero.

Formulações de microesferas	PHB	Eudragit® E
F1	100	0
F2	50	50
F3	25	75

Morfologia e diâmetro médio

A morfologia das microesferas foi observada em um microscópio eletrônico de varredura da marca Zeiss (DSM 940A). Amostras de cada formulação foram fixadas em um suporte e recobertas com uma fina camada de ouro. As micrografias foram obtidas em aumentos entre 50 e 1.000 vezes. O diâmetro das partículas foi determinado por análise das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), por meio do diâmetro de Ferret.

Determinação do teor de fármaco e da eficiência de encapsulação

Determinou-se o teor de praziquantel nas microesferas utilizando-se o método de espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta, previamente validado para esta finalidade, por meio dos parâmetros linearidade, precisão, exatidão e especificidade. Pesou-se uma quantidade conhecida de microesferas, as quais foram transferidas para um balão volumétrico de 10 mL e o volume completado com clorofórmio. A solução foi diluída até a concentração correspondente a 500 mg L⁻¹ de fármaco, empregando clorofórmio como solvente e a determinação da absorvância foi realizada em um espectrofotômetro Shimadzu (1601 PC) ($\lambda_{\text{máx}} = 264 \text{ nm}$). Calculou-se o teor de praziquantel pela

equação da reta obtida pela construção de uma curva de calibração.

Determinou-se a eficiência de encapsulação (EE%) do fármaco por meio da seguinte equação:

$$EE\% = \frac{\text{quantidade de fármaco encapsulada}}{\text{quantidade total de fármaco adicionada}} \times 100$$

Difração de raios-X (DR-X)

Os difratogramas do praziquantel, do PHB e das microesferas foram obtidos em um difratômetro de raios-X Shimadzu XRD-6000, com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$), na faixa de 5 a 50° , com passo de $0,05^\circ$ e tempo de 1s.

Liberação *in vitro*

Os perfis de dissolução *in vitro* do praziquantel e das microesferas foram determinados em um banho de água quente (GFL[®]) mantido a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Uma quantidade conhecida de microesferas correspondente a 11,25 mg de fármaco foi adicionada a 30 mL de HCl 0,1 N, em frascos vedados. Amostras foram coletadas em 10, 20, 30, 45 e 60 min. e a quantificação do fármaco dissolvido foi realizada por meio de espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta, em 264 nm, utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu (1601 PC). Determinou-se a quantidade de fármaco liberada para o meio de dissolução em função do tempo.

Resultados e discussão

Caracterização das microesferas

As micrografias da superfície externa das microesferas são apresentadas na Figura 1. Quando preparadas com o PHB (F1), as microesferas apresentaram superfície levemente rugosa, a qual é característica desse polímero (MARTIN et al., 2000). Empregando Eudragit[®] E e PHB na proporção de 50/50 (F2) houve a formação de pequenos poros na superfície das partículas. O aumento da proporção de Eudragit[®] E (F3) levou à formação de microesferas com poros maiores, conforme observado nas micrografias.

Os valores de distribuição de tamanho das microesferas encontram-se descritos na Figura 2. As preparadas com o PHB apresentaram menor tamanho comparado às outras formulações, com uma predominância de partículas em torno de $34,8 \mu\text{m}$. A adição de Eudragit[®] E originou um pequeno aumento no tamanho das microesferas,

especialmente quando foi empregado em maior proporção. A formulação 3 originou microesferas com predominância de tamanho na faixa de $52,2$ a $69,7 \mu\text{m}$, sendo observadas partículas com tamanho máximo de $95,7 \mu\text{m}$. Já a formulação 2 apresentou predominantemente tamanhos de partículas na faixa de $43,5$ a $60,9 \mu\text{m}$. Observou-se, também, que houve grande variação na distribuição do tamanho das microesferas provenientes de todas as formulações, abrangendo diâmetros que variaram de $17,4$ a $95,7 \mu\text{m}$, sendo esta variação esperada quando se utiliza o método de emulsão-evaporação do solvente. Por esse método, a emulsão é preparada por agitação mecânica e torna-se difícil de controlar o tamanho das gotículas, originando microesferas com distribuição muito ampla de tamanho. A composição da fase oleosa também pode interferir na uniformidade de tamanho das partículas (WANG et al., 2005).

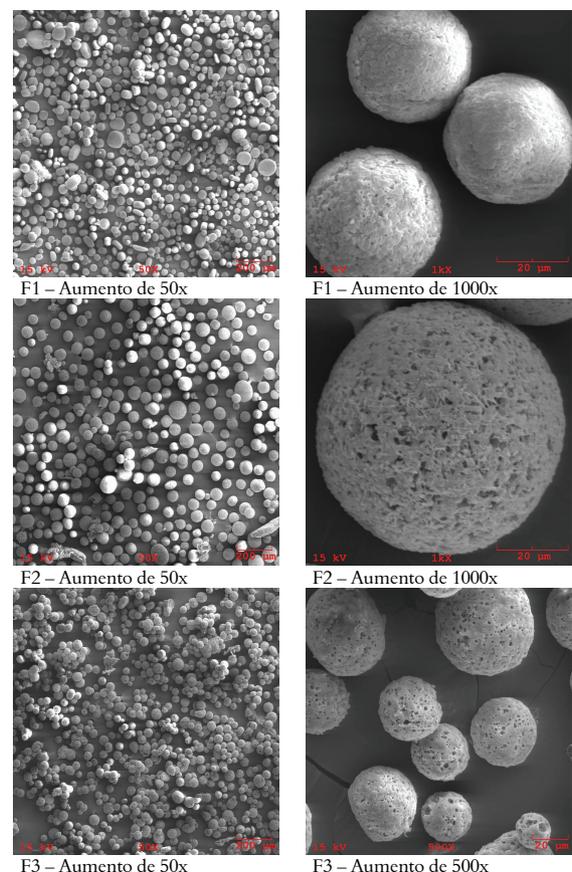


Figura 1. Micrografias de microscopia eletrônica de varredura das microesferas.

Os valores de eficiência de encapsulação do praziquantel encontram-se descritos na Tabela 2. Quando o PHB foi empregado na elaboração das micropartículas, altos teores de fármaco encapsulado

foram obtidos. Por outro lado, a adição de Eudragit® E levou a uma diminuição da eficiência de encapsulação do praziquantel.

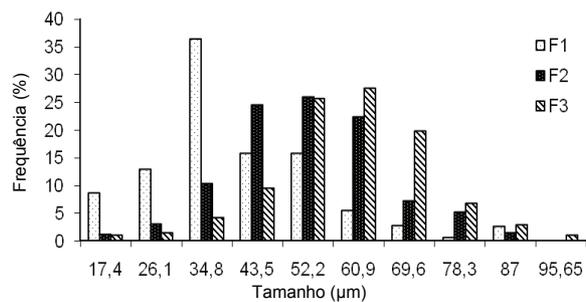


Figura 2. Gráfico da frequência de tamanho das microesferas.

Estudos realizados demonstraram que a variação na proporção de blendas de polímeros pode interferir na eficiência de encapsulação, pela afinidade do fármaco pelos polímeros e pelos solventes empregados no preparo da emulsão (RINALDI et al., 2009). Quando o fármaco possui maior afinidade pelo solvente do que pelo polímero, ocorre a migração do fármaco para a fase externa da emulsão, diminuindo, conseqüentemente, a quantidade de fármaco encapsulada (GONZÁLEZ et al., 2005).

Tabela 2. Eficiência de encapsulação do praziquantel nas microesferas.

Formulação	Eficiência de Encapsulação (EE%)
F1	78,01 ± 14,94
F2	42,46 ± 12,46
F3	52,21 ± 8,27

Difração de raios-X

Com o objetivo de avaliar o estado físico do praziquantel nas microesferas foram realizados ensaios de difração de raios-X. Os difratogramas do praziquantel, do PHB e das microesferas encontram-se demonstrados na Figura 3. O praziquantel possui arranjo cristalino, demonstrado por picos de difração intensa em 6,22, 7,92° e uma série de picos acima de 10°. Seu difratograma corresponde ao praziquantel racemato cristal, como relatado na literatura (CHENG et al., 2009). Nos difratogramas das microesferas observa-se a presença dos picos correspondentes ao PHB (13 e 16,5°), sendo que os picos correspondentes ao praziquantel não estão presentes nas microesferas. Isto indica que, provavelmente, o fármaco foi convertido para a forma amorfa ou encontra-se molecularmente disperso na matriz polimérica, necessitando de ensaios adicionais para confirmação.

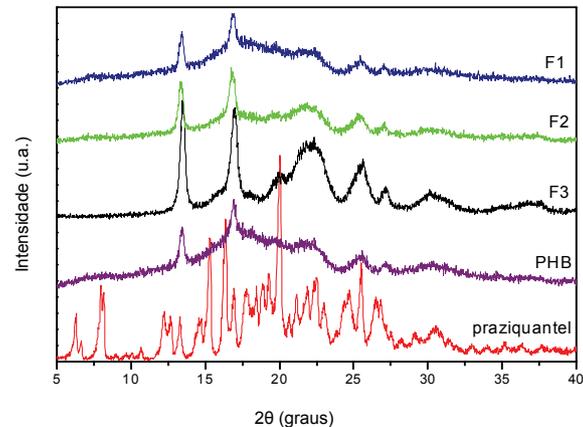


Figura 3. Difratogramas do praziquantel, do PHB e das micropartículas.

Liberação *in vitro*

O perfil de liberação do praziquantel, a partir das microesferas, foi avaliado após a determinação da concentração do fármaco no meio de dissolução. Os resultados obtidos, expressos em porcentagem de fármaco liberado versus tempo, podem ser observados na Figura 4.

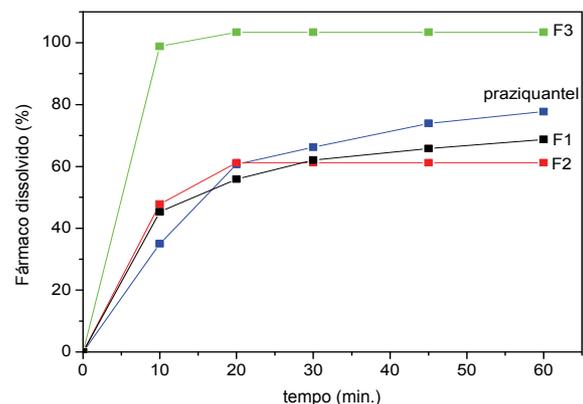


Figura 4. Comparativo dos perfis de dissolução do praziquantel puro e incorporado às microesferas.

Somente com o emprego de Eudragit® E/PHB na proporção de 75/25 (F3) foi possível observar aumento do percentual de fármaco dissolvido no meio em relação ao fármaco não-encapsulado, atingindo aproximadamente 99% de liberação nos primeiros 10.min. As formulações 1 e 2 apresentaram perfis de dissolução muito semelhantes ao do fármaco puro, sem promover aumento considerável da liberação do fármaco no meio de dissolução.

A liberação do fármaco, a partir de microesferas, pode ser afetada por diversos fatores, tais como: tamanho e porosidade das partículas, estado físico do fármaco, massa molar do polímero, proporção do polímero presente na

formulação, entre outros (WANG et al., 2005). Segundo Passerini et al. (2006) que avaliaram a dissolução do praziquantel incorporado em microesferas de Gelucire 50/13, diferentes mecanismos podem aumentar a dissolução do fármaco em meio aquoso, como a melhora na molhabilidade e na solubilização por ação de um carreador hidrofílico, a redução do tamanho de partícula e a conversão do fármaco para a forma amorfa.

A passagem do fármaco da forma cristalina para o estado amorfo deve ser um fator a ser considerado, pois geralmente as formas amorfas são mais solúveis do que as cristalinas, possuindo maior velocidade de dissolução (FREIBERG; ZHU, 2004; WONG et al. 2006).

De acordo com os resultados das análises de DR-X apresentados anteriormente, a possível amorfização do praziquantel após a sua incorporação às microesferas não se mostrou um fator relevante para o aumento da sua solubilidade aquosa uma vez que não houve diferença entre o perfil de dissolução do fármaco não-encapsulado (cristalino) e das microesferas preparadas com PHB ou Eudragit® E/PHB 50/50.

Portanto, acredita-se que a rápida liberação do praziquantel, a partir das microesferas de Eudragit® E/PHB 75/25, está relacionada, principalmente, à porosidade das partículas e à utilização do Eudragit® E como carreador hidrofílico. A presença de poros de grande diâmetro na superfície das microesferas, conforme se observou na Figura 1, pode ter contribuído para favorecer a dissolução do praziquantel por possibilitar a entrada do meio de dissolução no interior da matriz polimérica, facilitando a solubilização do fármaco.

O emprego de dispersões sólidas com carreadores hidrofílicos, a exemplo do polietilenoglicol e da polivinilpirrolidona, é uma estratégia que é amplamente utilizada para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis (MODI; TAIADE, 2006). Embora o Eudragit® E não seja comumente utilizado com esta finalidade, pode ter atuado como um carreador hidrofílico por ser solúvel em meio ácido e, desta forma, ter favorecido a solubilização do praziquantel. Resultados semelhantes foram obtidos por Eerikäinen et al. (2004) que obtiveram aumento da solubilidade do cetoprofeno em meio ácido incorporado em nanopartículas de Eudragit® E. A presença de maiores proporções desse polímero na matriz polimérica foi fundamental para promover melhoria da solubilidade aquosa do praziquantel.

Conclusão

Este estudo teve como objetivo avaliar o aumento da solubilidade aquosa do praziquantel, a partir da sua incorporação em microesferas poliméricas preparadas com PHB e blendas desse polímero com Eudragit® E. Os resultados demonstraram que as microesferas contendo Eudragit® E e PHB na proporção de 75/25 melhoraram significativamente a solubilidade *in vitro* do praziquantel. O aumento da solubilidade aquosa do fármaco está relacionado à maior proporção de Eudragit® E presente na formulação e à maior porosidade das microesferas.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do FAP – Fundo de Apoio à Pesquisa da Univille.

Referências

- BECKETT, G.; SCHEP, L. J.; TAM, M. Y. Improvement of the *in vitro* dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 179, n. 1, p. 65-71, 1999.
- CHEN, G. Q.; WU, Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. **Biomaterials**, v. 26, n. 33, p. 6565-6578, 2005.
- CHENG, L.; GUO, S.; WU, W. Characterization and *in vitro* release of praziquantel from poly(ϵ -caprolactone) implants. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 377, n. 1-2, p. 112-119, 2009.
- EERIKÄINEN, H.; PELTONEN, L.; RAULA, J.; HIRVONEN, J.; KAUPPINEN, E. I. Nanoparticles containing ketoprofen and acrylic polymers prepared by an aerosol flow reactor method. **AAPS PharmSciTech**, v. 5, n. 4, p. 1-9, 2004. (article 68).
- EL-ARINI, S. K.; LEUENBERGER, H. Dissolution properties of praziquantel-PVP systems. **Pharmaceutica Acta Helvetica**, v. 73, n. 2, p. 89-94, 1998.
- FREIBERG, S.; ZHU, X. X. Polymer microspheres for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 282, n. 1-2, p. 1-18, 2004.
- GONZÁLEZ, N.; FERNÁNDEZ, D.; GÓMEZ, M.; NÚÑEZ, L.; LAFITA, O. Efecto del Eudragit y la Etilcelulosa como agentes retardantes de la liberación sobre las características físico-químicas y la liberación *in vitro* de microesferas cargadas con zidovudina. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 3, p. 350-355, 2005.
- JESUS, M. B.; PINTO, L. M. A.; FRACETO, L. F.; TAKAHATA, Y.; LINO, A. C. S.; JAIME C.; PAULA, E. Theoretical and experimental study of a praziquantel and β -cyclodextrin inclusion complex using molecular mechanic calculations and H-nuclear magnetic resonance. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 4, p. 1428-1432, 2006.
- KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no

- Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 3, p. 303-308, 2000.
- MARTIN, M. A.; MIGUENS, F. C.; RIEUMONT, J.; SANCHEZ, R. Tailoring of the external and internal morphology of poly-3-hydroxy butyrate microparticles. **Colloids and Surfaces, B**, v. 17, n. 2, p. 111-116, 2000.
- MODI, A.; TAYADE, P. Enhancement of dissolution profile by solid dispersion (kneading) technique. **AAPS PharmSciTech**, v. 7, n. 3, p. 1-6, 2006. (article 68).
- MOUSTAFINE, R. I.; KABANOVA, T. V.; KEMENOVA, V. A.; VAN DEN MOOTER, G. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100. **Journal of Controlled Release**, v. 103, n. 1, p. 191-198, 2005.
- PASSERINI, N.; ALBERTINI, B.; PERISSUTTI, B.; RODRIGUEZ, L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, n. 1-2, p. 92-102, 2006.
- QUINTEROS, D. A.; RIGO, V. R.; KAIRUZ, J.; OLIVEIRA, M. E.; MANZO, R. H.; ALLEMANDI, D. A. Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 33, n. 1, p. 72-79, 2008.
- RINALDI, A. P. T.; MAZERA, S. K.; PEZZINI, B. R.; ZÉTOLO, M.; BAZZO, G. C. Preparo e caracterização de micropartículas de acetobutirato de celulose e poli(3-hidroxibutirato) contendo piroxicam. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 31, n. 1, p. 51-56, 2009.
- SANT, V. P.; SMITH, D.; LEROUX, J. Enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs by poly(ethylene glycol)-block-poly(alkyl acrylate-co-methacrylic acid) self-assemblies. **Journal of Controlled Release**, v. 104, n. 2, p. 289-300, 2005.
- SILVA, P. Anti-helmínticos. In: BINA, J. K. (Ed.). **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 1123-1136.
- SWEETMAN, S. C. **Martindale: the complete drug reference**. 33rd ed. Londres: Pharmaceutical Press, 2002.
- WANG, L.; MA, G.; SU, Z. Preparation of uniform sized chitosan microspheres by membrane emulsification technique and application as a carrier of protein drug. **Journal of Controlled Release**, v. 106, n. 1-2, p. 62-75, 2005.
- WONG, S. M.; KELLAWAY, I. K.; MURDAN, S. Enhancement of the dissolution rate and oral absorption of a poorly water soluble drug by formation of surfactant-containing microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 317, n. 1, p. 61-68, 2006.

Received on July 16, 2010.

Accepted on June 6, 2011.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.