



ESTUDO DE BIOCERÂMICAS COMO DEPÓSITO PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Eduardo Caballero

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento Engenharia Mecânica

E-mail: educaballero@hotmail.com

Francisco Henrique Wykrota

Einco Biomateriais Ltda

José Maciel Rodrigues Júnior

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de produto Farmacêutico

E-mail: jmaciel@reitoria.ufmg.br

Leonardo Wykrota

Instituto Brasileiro de Biomateriais

E-mail: wykrota@redebrasil.com.br

Marcos Pinotti

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Eng. Hidráulica e Recursos Hídricos

E-mail: pinotti@cce.ufmg.br

Resumo. *Este trabalho estudou a incorporação e liberação do antibiótico gentamicina (Garamicina Injetável®) suportado por uma biocerâmica de fosfato de cálcio (Osteosynt®). A quantidade de droga incorporada na biocerâmica foi baseada no seu peso total a ser utilizado, a porcentagem de antibiótico utilizado no experimento foi de 10% em relação ao peso. Para a garamicina foi constatado que houve, no intervalo de tempo de 72h, uma liberação de aproximadamente 90% do antibiótico incorporado.*

Palavras-chave: *liberação de fármacos, gentamicina, osteomielites, biocerâmica.*

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, os índices de acidentes envolvendo lesões com perda óssea onde é necessária a reconstrução e/ou recomposição de tecidos ósseos vem crescendo assustadoramente. Isso se deve principalmente aos acidentes automobilísticos e esportes com altas taxas de risco. Um fator que está fortemente associado às lesões com perdas ósseas, por exemplo, fraturas expostas, é a ocorrência de processos infecciosos (osteomielite) associados a bactérias e

fungos, em torno de 10 a 50% de ocorrência, tornando o tratamento da lesão mais difícil. Para combater os processos infecciosos é necessário uma administração agressiva de antibióticos. Os resultados desses tratamentos nem sempre são satisfatórios, devido à baixa circulação de sangue no local (Yu *et al*, 1992).

Por esses motivos, diversos tipos de biomateriais vêm sendo pesquisados e cada vez mais utilizados em procedimentos cirúrgicos, voltados para a reconstrução e recomposição de tecidos ósseo. Dentre os biomateriais existentes no mercado se destacam as biocerâmicas preparadas a partir de sais de fosfato de cálcio, devido às suas características e propriedades específicas, tais como: biocompatibilidade; osteocondutibilidade; osteoindutibilidade; osteofilia; semelhança estrutural, química e física com a matriz mineral óssea. Existe ainda a possibilidade destes materiais incorporarem substâncias, promovendo dessa forma a liberação de antibióticos, fibrinas, fatores de crescimento e outros fármacos (substâncias utilizadas com caráter medicinal) usados para o tratamento e/ou prevenção para uso local em concentrações desejáveis.

Partindo da necessidade de um material que reúna todas as características descritas anteriormente, desenvolveu-se uma biocerâmica conhecida como Osteosynt® (Eico Biomaterial Ltda). Este material tem mostrado ser uma boa alternativa, conforme resultados obtidos em pacientes nos últimos anos, tais como: boa remineralização, boa incorporação, bom veículo liberados de fármacos, e apresentar condições fisiológicas com resistência mecânica esperada na presença das condições orgânicas exigíveis para uma neo-formação tecidual óssea.

O presente trabalho avaliou a adsorção e o perfil de liberação da gentamicina incorporada em biocerâmica de fosfato de cálcio Osteosynt®.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Biocerâmica

As Biocerâmicas utilizadas nesse experimento são do tipo : **Bifásicas Micro–Macro–Porosas**. Essas duas fases são de grande importância para um material utilizado no preenchimento ósseo: uma fase mais solúvel composta de β TCP (beta trifosfato de cálcio) que, em contato com os tecidos, libera íons de cálcio e fósforo presentes no tecido ósseo, e outra fase, mais estável, composta de HA (hidroxiapatita) que é um fosfato de cálcio, presente naturalmente no organismo, que mantém a estrutura e o volume permitindo a neo-formação vascular e tecidual, atuando na atividade osteoblástica.

Estas biocerâmicas apresentam macro poros intercomunicantes, que induzem uma resposta orgânica mais efetiva e forte ligação, uma vez que tornam mais fácil o crescimento tecidual. Apresentam também micro poros intercomunicantes, o que aumenta a concentração de íons de cálcio e a solubilidade na área, proporcionando maior capacidade de contato e trocas com líquidos orgânicos (Wykrota, 1998).

As biocerâmicas utilizadas neste trabalho são compostas de 30% β TCP + 70% de Hidroxiapatita, possuem microporos de 1 a 5 μ m, macroporos de 100 a 300 μ m, granulometria de 20 a 40 mesh e porosidade de 45%.

2.2 Gentamicina (Fármaco)

Utilizou-se gentamicina (Garamicina Injetável®) cedida pela Indústria Química Farmacêutica Schering-Plough S.A - Garamicina Injetável®. O fabricante forneceu o certificado de análise química do material utilizado permitindo conhecer, com precisão, o valor da concentração de antibiótico presente na solução. A quantidade de gentamicina

incorporada foi de 10% p/p de biocerâmica. Após incorporação a mistura foi colocada em uma estufa de calor seco por 1h.

2.3 Dispositivo para aquecimento

É composto de um reservatório com água acoplado à uma resistência térmica variável. Desta forma foi possível manter constante a temperatura da água, $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, na qual foi inserido o reservatório com a solução em estudo. Esse valor de temperatura foi escolhido por ser a encontrada no corpo humano.

2.4 Agitador Magnético

Para manter a concentração da solução homogênea foi introduzida uma barra magnética dentro do reservatório, e todo o sistema foi colocado sobre uma plataforma magnética. Dessa forma foi criado um campo magnético que por sua vez provoca um movimento de rotação na barra, que agita a solução promovendo a homogeneização da concentração.

2.5 Estudo de liberação

Depois de seca, a mistura foi introduzida em uma tela de nylon com orifícios de $100\mu\text{m}$. Esse conjunto (biocerâmica+antibiótico+tela) foi então introduzido dentro de um reservatório com temperatura constante de $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, contendo 100 mL de PBS (pH 7,4), sob agitação constante de 50 rpm. As condições SINK perfeitas foram respeitadas, quer dizer o gradiente de difusão ocorre do biocerâmica para a solução. Amostras de 1,0 ml de solução, contendo a quantidade liberada de fármaco no tempo, foram retiradas em intervalos de tempo pré-determinados (30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 8h, 24h, 48h e 72h). Após cada amostra, foi adicionado 1,0 ml de PBS (Martins *et al*, 1998). A Fig.1 representa o *lay-out* do experimento

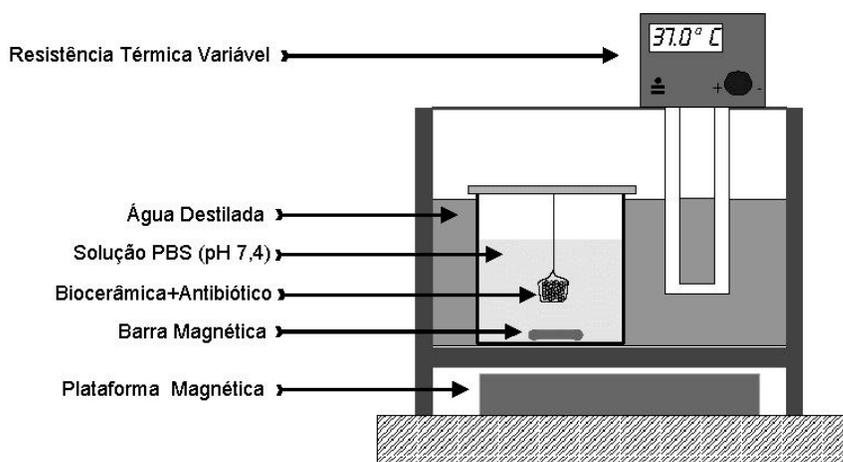


Figura 1 – *Lay-out* do experimento utilizado para manter a temperatura constante do reservatório com a solução em estudo

2.6 Quantificação da gentamicina

A gentamicina foi quantificada por método espectrofotométrico após reação em presença de 2,4 Dinitrofluorbenzeno, em utilizando equipamento HITACHI, modelo U-2001. O

comprimento de onda utilizado para medir o valor de absorvância das amostras, foi de $\lambda=415\text{nm}$.

Uma vez determinadas as concentrações em função da absorvância medida, foram ainda multiplicadas por um fator de correção, pois a cada retirada de 1 ml de amostra era adicionado complemento de 1ml de PBS na solução, dessa forma sua concentração estava sendo diminuída progressivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig.2 mostra que aproximadamente 90,0 % do antibiótico incorporado a biocerâmica foi liberado, para o período de 72 horas, e o perfil da liberação para gentamicina é bifásico. O perfil de liberação pode ser dividido em : **fase de liberação rápida**, que compreende o período inicial de aproximadamente 4h, caracterizada pelo processo de difusão ocorrido através dos poros e **fase de liberação lenta**, que pode estar associado à degradação do material ou à solubilização do complexo (Martins *et al*, 1998).

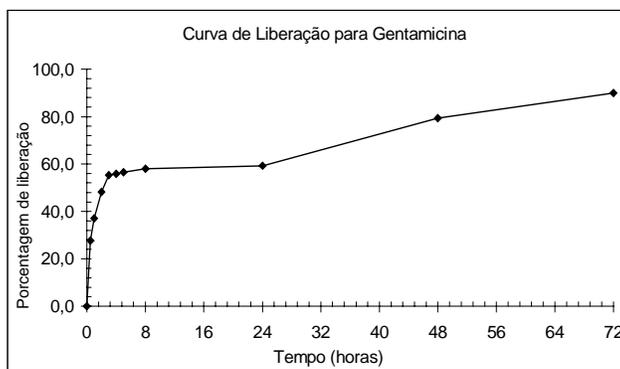


Figura 2 - Perfil da curva de liberação para a gentamicina em 72h

A modelagem de liberação de substâncias sustentadas em elementos porosos, pode ser analisada, de acordo com Okano (1998), por:

$$M_t = M_o . k . t^n \quad (1)$$

Onde M_t é a quantidade de fármaco liberado ao longo do tempo, M_o é a quantidade inicial de fármaco, k é uma constante cinética de liberação e n representa o tipo de mecanismo de liberação, ver detalhes na Tabela 1 (Okano, 1998).

Tabela 1 – Tipos de difusão relacionadas a liberação de fármacos

n	Descrição do Processo
= 0,5	Difusão segundo lei de Fick
> 0,5	Difusão anômala
= 1	Difusão de ordem zero controlada por relaxação do sistema (Difusão não-Fick)

A determinação do tipo de mecanismo de liberação é mostrado no gráfico da Fig.3.

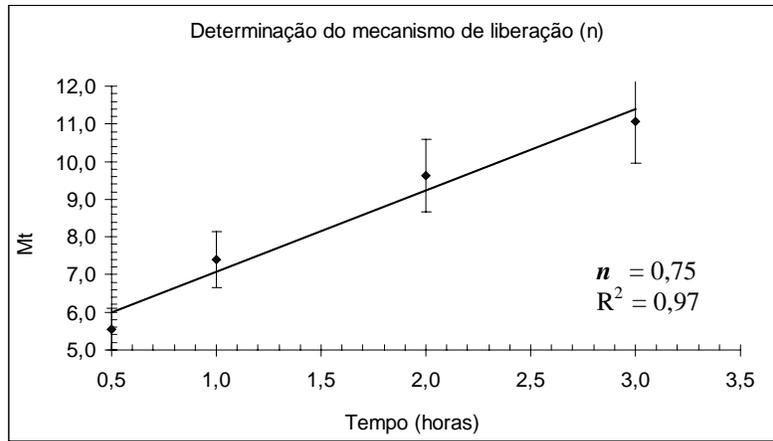


Figura 3 - Determinação do tipo de mecanismo de liberação (n) presente para a fase de liberação rápida do processo (primeiras 3 horas)

De acordo com o gráfico da Fig.3 o valor encontrado para n foi de 0,75, isso sugere que a gentamicina é liberada por um processo anômalo que pode envolver troca iônica.

Uma outra forma muito comum de se estudar liberação de fármacos, suportados por matrizes porosas foi proposta por Higuchi (1963). Segundo Higuchi, considerando $n = 0,5$ (Difusão segundo Lei de Fick) a constante cinética k por ser representada por uma expressão conhecida tradicionalmente como **Parâmetro cinético de Higuchi**:

$$k = D_{eff} \cdot \left(\frac{\varepsilon}{\tau} \right) C_s \cdot (2 \cdot C_d - \varepsilon \cdot C_s) \quad (2)$$

onde D_{eff} é o coeficiente de difusividade do fármaco, ε é a porosidade do material utilizado como suporte para liberação, τ é o fator de tortuosidade do material, C_d é a concentração de fármaco incorporada e C_s é a solubilidade molar do fármaco.

Com os resultados obtidos foi feita uma regressão linear para as primeiras 4 horas do experimento, com o intuito de identificar o valor do parâmetro cinético ($M_0 \cdot k$) utilizado por Higuchi, Fig.4.

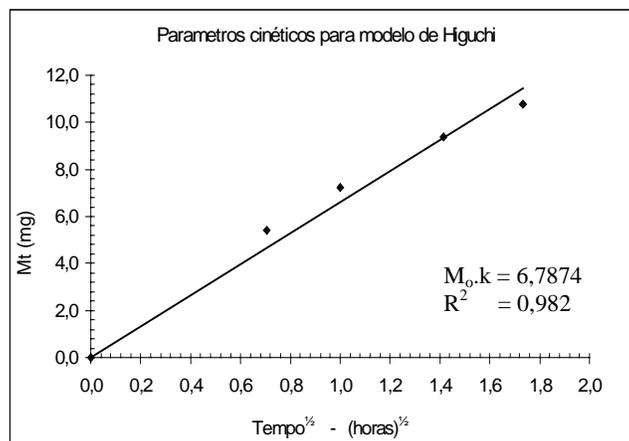


Figura 4 - Regressão linear para identificação do parâmetro cinético de Higuchi

Devido ao valor do coeficiente de correlação linear (R^2), Fig.2, ser próximo a 1,0, o perfil de liberação para a fase rápida do processo pode ser aproximado ao perfil de liberação descrito pelo modelo analítico de Higuchi. Com base nas Eq.(1) e Eq.(2) os resultados sugerem que a liberação do fármaco incorporado é controlada pelo processo de difusão que ocorre dentro dos poros da biocerâmica, indicando, assim, que a taxa de liberação está intimamente ligada às características físicas da biocerâmica, tais como: porosidade e tortuosidade.

$$M_t = 6,7874.t^{0,5} \quad (3)$$

É importante salientar que a Eq.(3) é válida somente para casos onde as características e quantidades de fármaco incorporados em uma biocerâmica específica, sejam os mesmos que os apresentados nesse experimento.

Os resultados obtidos com esse experimento estão dentro do previsto, pois segundo Bohner *et al* (1997) as taxas de liberação para gentamicina incorporada em materiais feitos a base de fosfato de cálcio, são superiores a 60%.

4. CONCLUSÕES

A biocerâmica estudada, devido à sua biocompatibilidade com o organismo e a possibilidade de ser utilizada como veículo liberar de fármacos, em casos de lesões no tecido ósseo e consequentes processos infecciosos, torna-se mais uma opção de material para utilização em enxertos ósseos. Os resultados obtidos neste trabalho fazem parte de um programa de desenvolvimento de metodologias de estudo de controle de liberação de fármacos, e tem como objetivo final comparar resultado *in vitro* com os *in vivo*.

Agradecimentos

Ao convênio FAPEMIG-FIEMG/IEL-EINCO pelo apoio financeiro concedido para esta pesquisa. Ao Instituto Brasileiro de Biomateriais pela assistência técnica no desenvolvimento do trabalho, e a toda equipe do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (Faculdade de Farmácia - UFMG).

REFERÊNCIAS

- Bohner, M.; Lemaitre, J.; Landuyt, P.; Zambelli, P.; Merkle, H; Grander, B., 1997, Gentamicin-Loaded Hydraulic Calcium Phosphate Bone Cement as Antibiotic Delivery System. *Journal of Pharmaceutics Sciences*, V.86, p.565.
- Higuchi, T., 1963, Mechanism of Sustained-Action Medication. *Journal of Pharmaceutics Sciences*, V.52, p.1145.
- Martins, V.; Ribeiro, A.; Goissis, G., 1998, Compósitos de hidroxiapatita: Colágeno como suporte para liberação de antibióticos. Congresso Latino Americano de Órgão Artificiais e Biomateriais. Brasil.
- Okano, T., 1998, Biorelated polymers and gels : controlled release and applications in biomedical engineering. Academic Press, Estados Unidos.
- Ryan, J., 1984, Colorimetric Determination of Gentamicin, Kanamycin, Tobramycin, and Amikacin Aminoglycosides with 2,4-Dinitrofluorbenzene. *Journal of Pharmaceutics Sciences*, V.73, p.1301.

- Wykrota, L.; Garrido, C.; Wykrota, F.; Cury, W.; Filho, J., 1998. Clinic Evaluation of Biphasic Calcium Phosphate Ceramic use in Orthopaedic Lesions. 11th Congress of Bioceramic, Nova York, Estados Unidos.
- Yu, D.; Wong, J.; Matsuda, Y.; Fox, J.; Higuchi, W., 1992, Self-Setting Hydroxyapatite Cemen: A Novel Skeletal Drug-Delivery System for antibiotics. Journal of Pharmaceutics Sciences, V.81, p.529.

STUDY OF BIOCERAMIC AS DRUG-DELIVERY SYSTEM FOR ANTIBIOTICS

***Abstract.** This work studied the incorporation and release of the antibiotic loaded by a bioceramic of phosphate of calcium (Osteosynt®). The amount of drug incorporated in the bioceramic was based on its total weight to be used. The antibiotic percentage used in the experiment was of 10% in relation to the weight. For the gentamicin it was verified that there was, in the interval of time of 72 hours, obtained release of 90% of the incorporate antibiotic.*

***Key words:** Drug-delivery, gentamicin, osteomyelitis, bioceramic.*