

OBTENÇÃO TECNOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO *IN VITRO* DE MICROEMULSÕES TRANSDÉRMICAS DE ZIDOVUDINA

Emison Tarcisio Luz Cruz (Iniciação Científica Voluntária – UFPI), André Luis Menezes Carvalho (Orientador, Depto de Bioquímica e Farmacologia – UFPI)

INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é a manifestação clínica da infecção pelo vírus HIV que, de acordo com dados oficiais do governo brasileiro, já foram identificados aproximadamente 506 mil casos da doença no país. A Zidovudina (AZT) foi o primeiro composto anti-HIV aprovado para uso clínico e utilizado para terapia antiretroviral, mas que, para evitar os efeitos colaterais e reduzir a toxicidade dose-dependente após sua administração oral surge a necessidade de administração do fármaco por uma via alternativa a oral. Este trabalho propõe o desenvolvimento de um sistema microemulsionado de liberação transdérmica de zidovudina para servir como uma forma farmacêutica alternativa. OLIVEIRA e colaboradores (2004), afirmaram que as microemulsões apresentam características excelentes para a liberação transdérmica de fármacos, em razão de seu conteúdo em substâncias tensoativas. Neste trabalho, desenvolvemos e validamos uma metodologia adequada para analisar essas características.

METODOLOGIA

As microemulsões foram preparadas através da construção de diagramas de fase pseudo-ternário utilizando-se o método de titulação com água. Os diagramas de fase foram inicialmente compostos pelos seguintes componentes: tensoativos não-iônicos, álcool de cadeia curta e óleo. Os tensoativos utilizados foram combinados na razão de 1:1, 2:1, 3:1 e 4:1 misturados e deixados em equilíbrio durante o período de 12 horas. A partir da análise dos diagramas de fases, escolheu-se três formulações para o estudo: formulação F1 (9% de Plurol Oleique; 36% de Labrasol; 5% de Miristato de Isopropila; 50% de Água purificada); formulação F6 (10% de Plurol Oleique; 30% de Labrasol; 10% de Miristato de Isopropila; 50% de Água purificada); e formulação F10 (17,6% de Plurol Oleique; 35,3% de Labrasol; 5,9% de Miristato de Isopropila; 41,2% de Água purificada). Foi realizada uma varredura espectrofotométrica com uma solução de AZT em etanol para confirmação do comprimento de onda de melhor absorção para desenvolvimento do método, no intervalo de 180 a 350 nm. Na validação foram analisados os parâmetros de linearidade, limite de quantificação, limite de detecção, especificidade, repetibilidade, reprodutibilidade, robustez e exatidão, de acordo com a RE nº 899 da ANVISA. Estes cinco últimos parâmetros da validação foram realizados utilizando-se a microemulsão de formulação F6, sendo que, as amostras para a leitura no espectrofotômetro, foram preparadas pesando-se 0,4g dessa formulação, dilui-se para 100 mL de etanol, retirou-se, posteriormente, 1600 µL desta solução e dilui-se para 10 mL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da varredura espectrofotométrica da solução etanólica de Zidovudina, foi escolhido o comprimento de onda de 266 nm para as análises. No parâmetro de linearidade, os pontos da curva foram plotados num gráfico absorvância *versus* concentração, obtendo-se a curva de calibração e sua respectiva equação da reta pelo método de regressão linear com o seu correspondente coeficiente de correlação linear. De acordo com os resultados desse gráfico, realizou-se o tratamento estatístico, em que se determinou o desvio-padrão e o coeficiente de variação dos valores de absorvância das amostras, sendo que estes estavam inferiores a 5% (valor máximo exigido pelo ICH) em todas as concentrações. Outro fator utilizado para considerar a metodologia linear foi o valor do coeficiente de correlação $R = 0,99998$, que estava acima de 0,99, que é o mínimo exigido pela International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration on Pharmaceutical for Human Use (ICH). A equação da reta de regressão ficou descrita como $Y = 0,0406x + 0,0029$. Pelo tratamento de análise de variância (ANOVA) ao nível de significância de 5% demonstrou um resultado aceitável no intervalo de confiança de 95%. Considerou-se, então, após essas análises, que o método foi linear e que não houve falta de ajustes para as médias estudadas. Os Limites de quantificação e de detecção calculados foram de 0,1229 e 0,0811, respectivamente. Estes valores serão de grande valia durante as cinéticas de liberação, pois o primeiro indica a menor quantidade do analito que poderá ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis e, o segundo, revela a menor quantidade do analito presente em uma amostra que poderá ser detectado, porém não necessariamente quantificado (BRASIL, 2003). Através da análise do gráfico de varredura espectrofotométrica da microemulsão, pôde-se observar que a amostra com apenas microemulsão (placebo) não obteve valor de absorvância significativa no comprimento de onda de 266nm. Enquanto isso, a amostra de microemulsão contendo Zidovudina (AZT) revelou dois picos máximos de absorvância, concluindo-se que o método desenvolvido foi específico. Os valores obtidos na repetibilidade revelou coeficiente de variância (CV) de 1,02 %, sendo, portanto, um valor bem abaixo do máximo exigido de 5 %. Da mesma forma, outros dados mostraram que o método teve reprodutibilidade, já que o coeficiente de variação destes foram de 1,93%. Tendo em vista os valores do CV obtidos na repetibilidade e na reprodutibilidade, podemos comprovar que a metodologia em estudo foi precisa. Na análise da Robustez, não houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras em diferentes temperaturas, já que obtivemos um $F_{calculado}$ menor que o $F_{crítico}$. Portanto, o método obtido foi apresentado robusto. A exatidão foi verificada para três níveis de concentração: baixa, média e alta. Os dados experimentais obtidos revelaram uma média de recuperação do analito de 97,43 % (96,9% a 98,2%) e que o maior coeficiente de variação foi de cerca de 0,91 %. Logo, os resultados do estudo de exatidão demonstram que pequenas variações da concentração de AZT, podem ser prontamente quantificadas pelo método, bem como não há interferência dos excipientes da microemulsão, portanto, o método analítico desenvolvido é suficientemente exato.

CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida neste trabalho para a quantificação de Zidovudina em microemulsões demonstrou ser simples, rápida e foi devidamente validada, mostrando-se promissora para sua aplicação em cinética de liberação *in vitro*. As amostras derivadas de cinética de liberação *in vitro* foram analisadas pelo método desenvolvido e de forma preliminar, evidencia-se a boa reprodutibilidade e especificidade do método. Entretanto, ressalta-se que novos experimentos de cinéticas serão realizados para comprovar efetivamente a aplicação do método analítico desenvolvido para quantificação do AZT em sistemas microemulsionados (microemulsão) e em amostras derivadas de cinética de liberação *in vitro*.

APOIO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI). Recursos oriundos de aprovação Edital de Fluxo contínuo FAPEPI 01/2008.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL (2003). Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução 899 de 29 de maio de 2003, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISD3352823PTBRIE.htm>>. Acesso em 19 de Julho de 2010.

ICH Q2(R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Disponível em: <<http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2010.

OLIVEIRA, A. G. et al. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 1, 131-138, 2004.

Palavras-chave: Microemulsões, Espectrofotometria UV, Zidovudina.