

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DA NOVA FORMA FARMACÊUTICA PARA O ANESTÉSICO LOCAL PRAMOXINA, COMPLEXADO COM HIDROXIPROPIL-BETA-CICLODEXTRINA



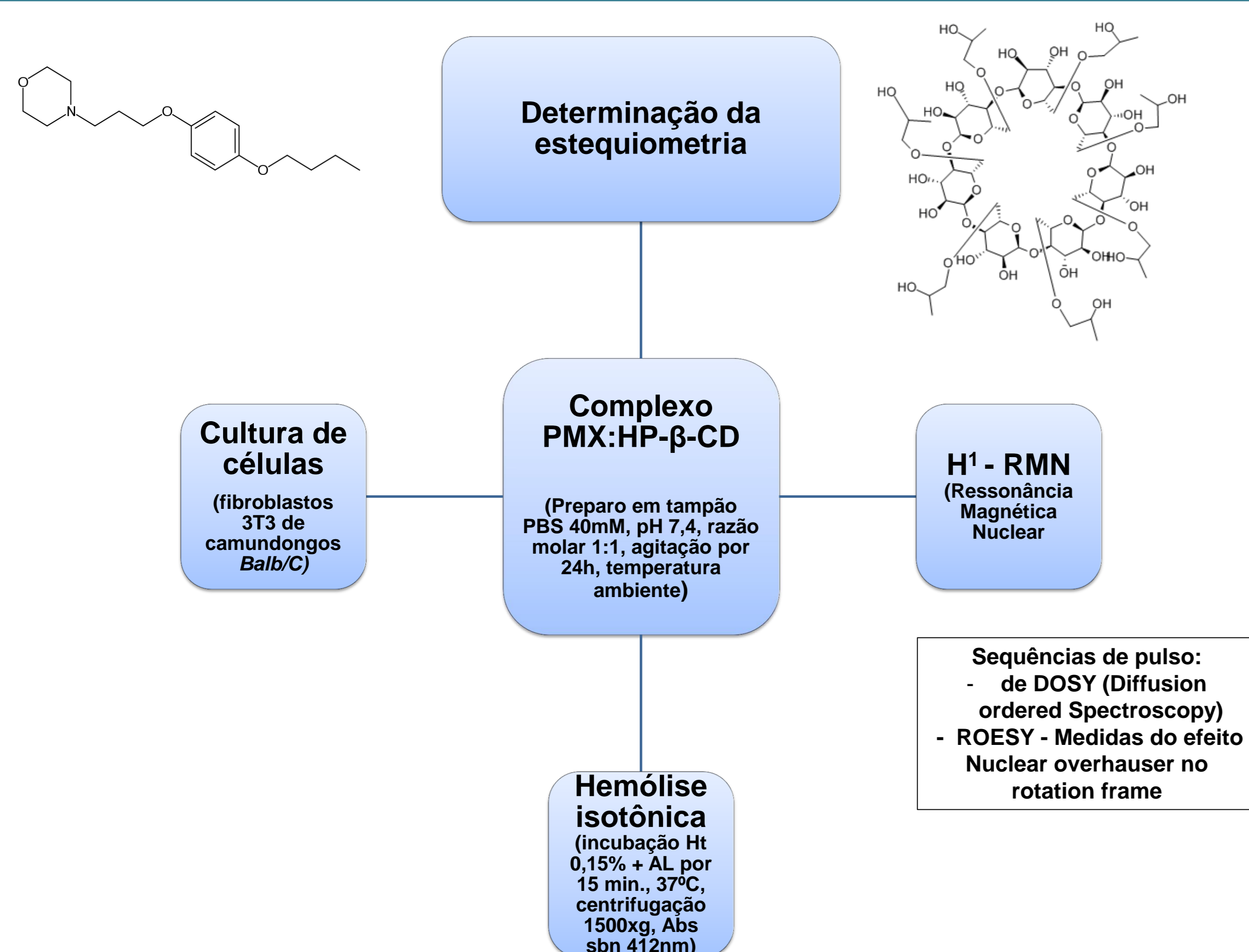
Juliana Marques Bezamat¹ (bolsista Pibic), Luis Fernando Cabeça², Eneida de Paula¹
¹ Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia – UNICAMP; ² Univ. Tecnol. Paraná, Londrina
 Palavras-chave: pramoxina, ciclodextrina, anestésico local
 E-mail: ju.bezamat@gmail.com



INTRODUÇÃO

A pramoxina (PMX) é um anestésico local classificado como aminoéter e tem utilização em preparações farmacêuticas (PMX 1%) para uso tópico como: pomadas, cremes e soluções [1], porém é muito irritante para ser usada nos olhos e no nariz [2]. Sistemas de liberação sustentada podem ser usados com o objetivo de melhorar a eficácia e o índice terapêutico de AL. Nesse trabalho foi desenvolvida e caracterizada uma formulação de liberação sustentada para o anestésico local pramoxina através de sua complexação com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), um oligossacarídeo cíclico.

MÉTODOS



RESULTADOS

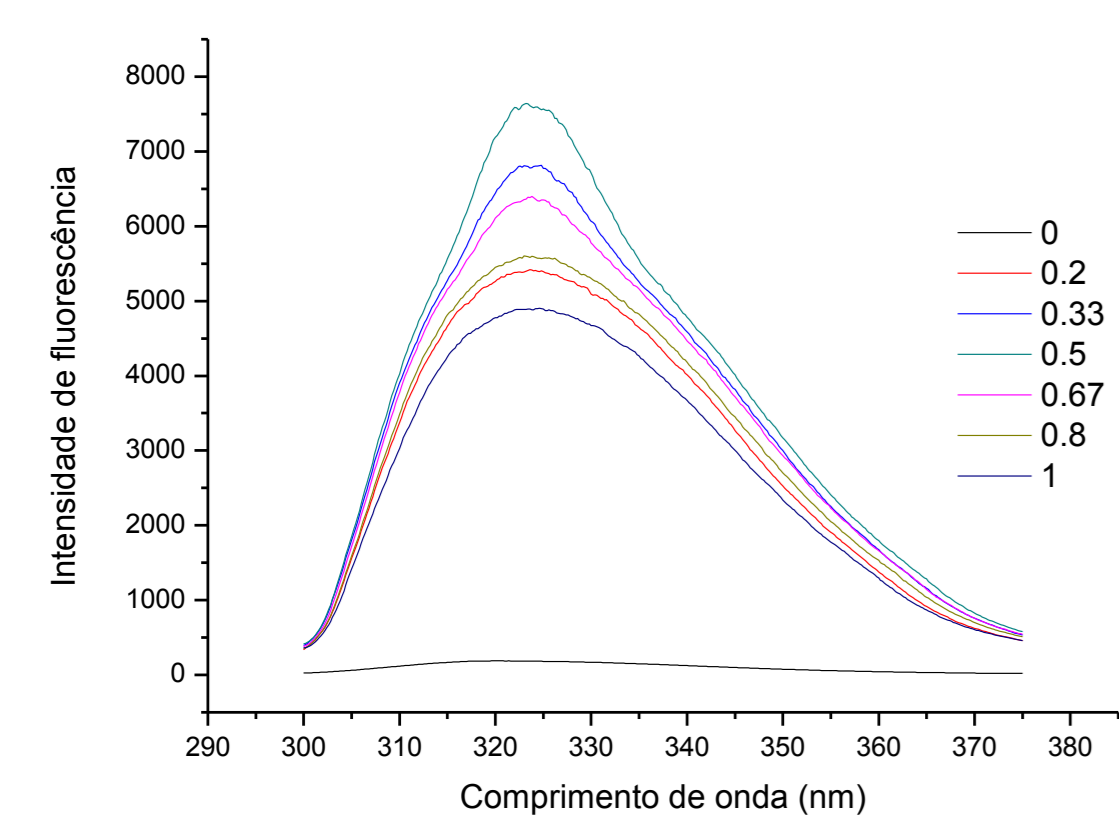


Figura 1: Espectros de emissão de fluorescência da PMX ($6.10^{-5}M$) complexada com HP-β-CD na razão molar de 0 a 1, pH 7,4, T.A.

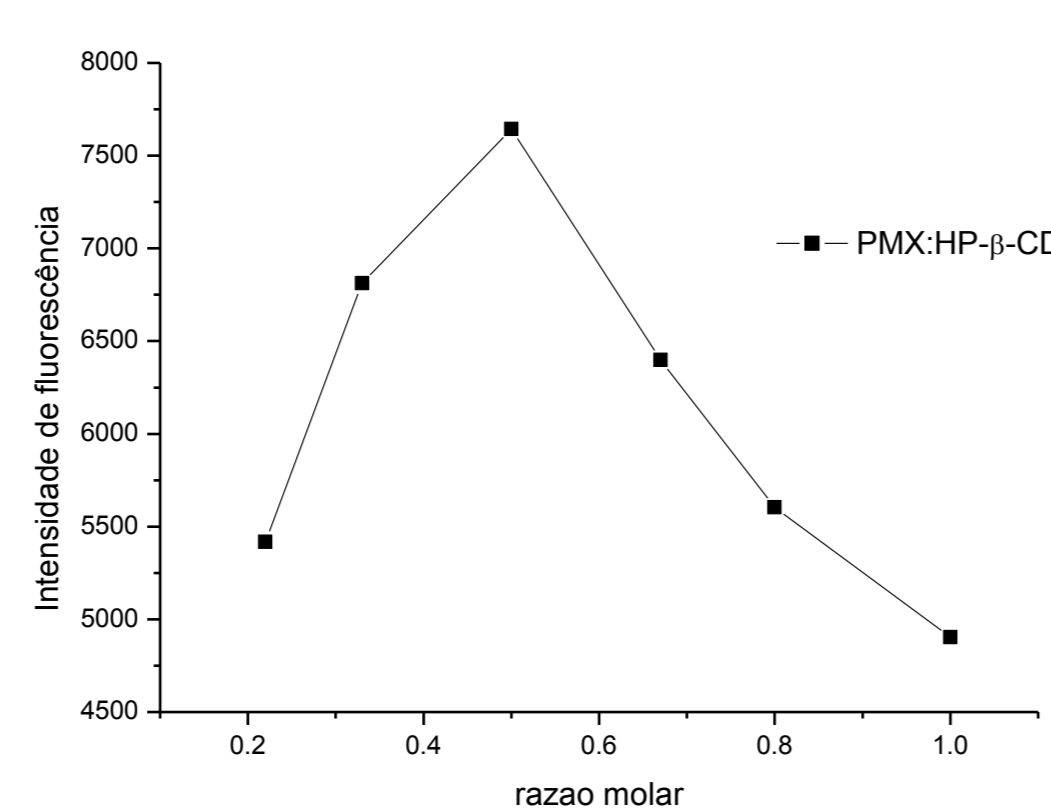


Figura 2: Gráfico de variação contínua (Job Plot), mostrando a variação da fluorescência da PMX em função de razão molar PMX:HP-β-CD, para determinação da estequiometria de formação do complexo, a temperatura ambiente.

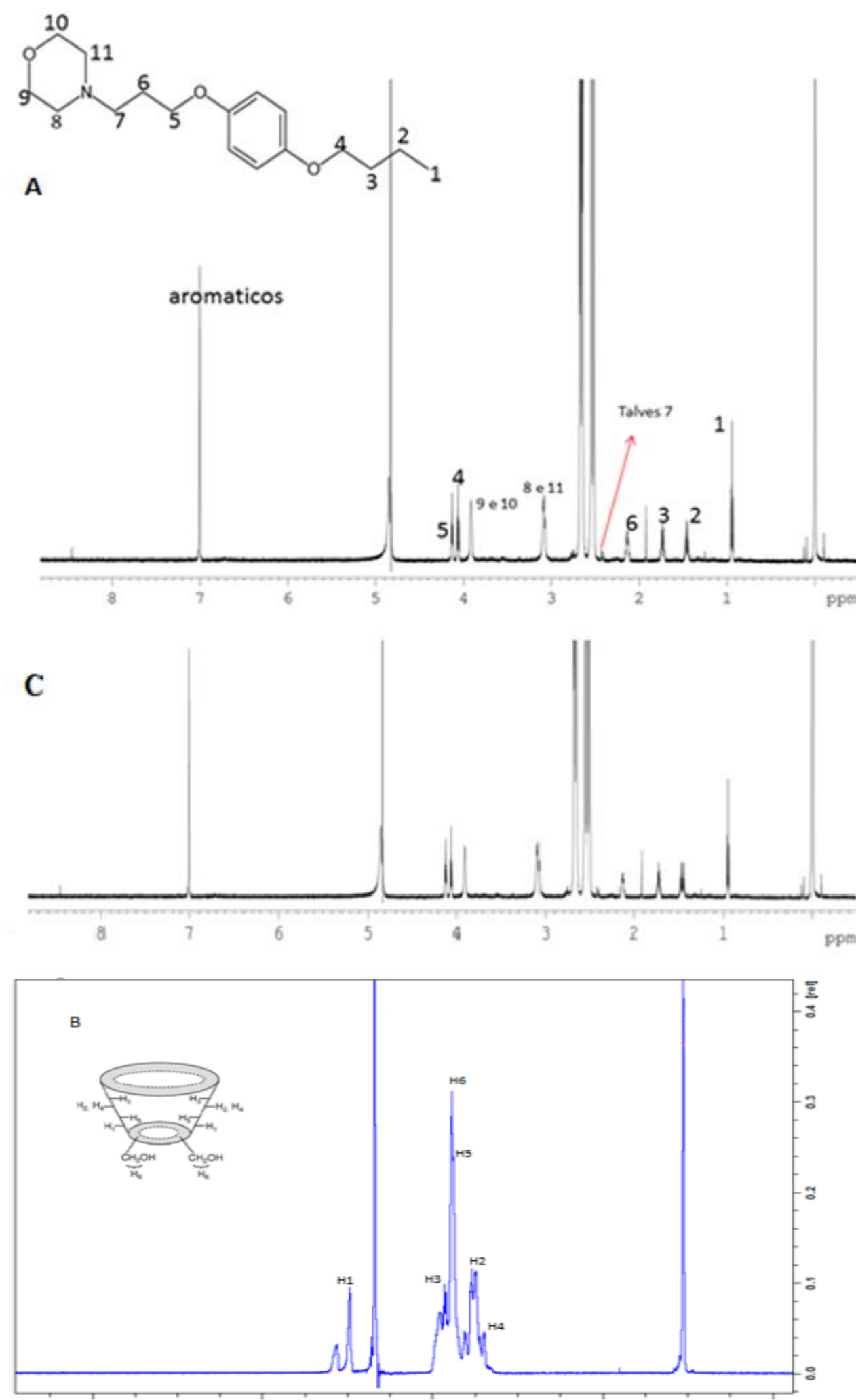


Figura 3: Espectros de ¹H-RMN da PMX (A), HP-β-CD (B) e complexo PMX:HP-β-CD (C) na razão molar 1:1, 500 MHz, temperatura 25°C.

Tabela 1: ¹H-RMN - Deslocamentos químicos ($\Delta\delta$, ppm) dos hidrogênios da PMX livre e na presença de HP-β-CD. Atribuição como na Fig. 3.

Hidrogênio	$\delta_{ausência}$	$\delta_{presença}$	$\Delta\delta$
1	0,945	0,921	-0,024
2	1,449	1,430	-0,019
3	1,734	1,734	0
4	4,060	*	*
5	4,126	*	*
6	2,132	2,090	-0,042
7	**	-	-
8	3,082	2,980	-0,102
9	3,912	*	*
10	3,912	*	*
11	3,082	2,980	-0,102
aromáticos	6,999	6,868	-0,131

* Deslocamento não mensurado devido à sobreposição espectral

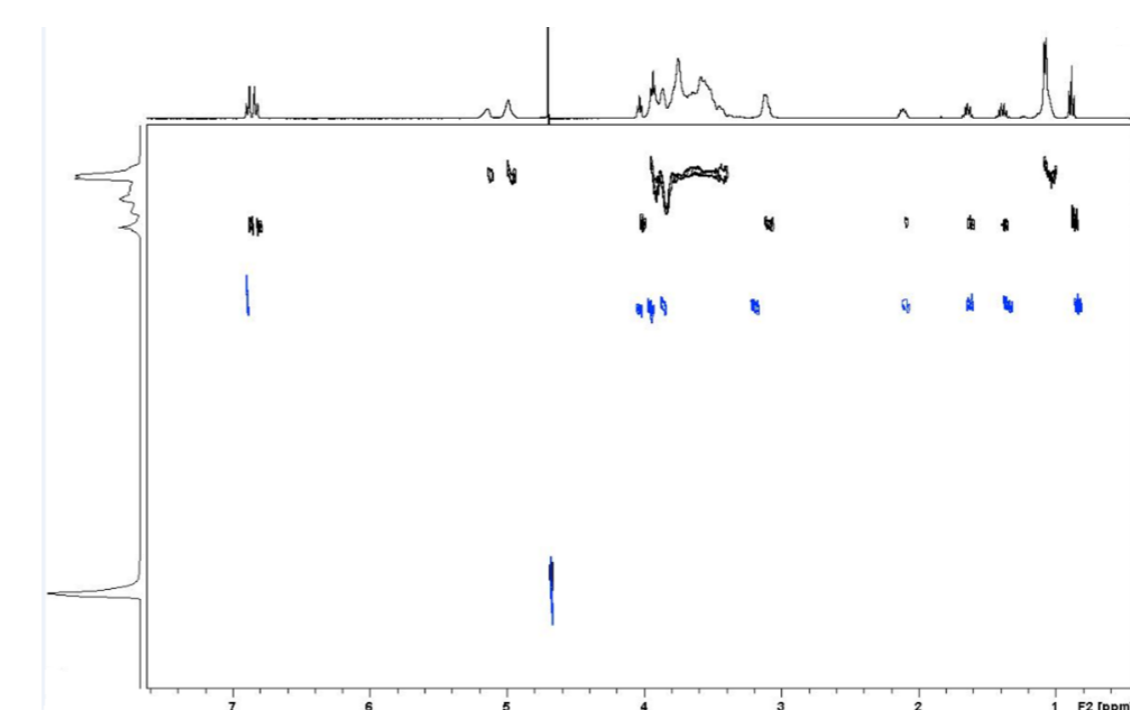


Figura 4: Espectro pseudo-bidimensional de ¹H-RMN: experimento de DOSY para PMX (em azul) e complexo PMX:HP-β-CD (em preto), na razão molar 1:1.

Tabela 2: ¹H-RMN - Fração molar do complexo e constante de associação (K_a) da PMX com HP-β-CD, determinada pelos coeficientes de Difusão (D) da PMX, HP-β-CD, e do complexo PMX:HP-β-CD calculados a partir de espectros de DOSY [3] (ao lado).

Compostos	D ($10^{-10} m^2 s^{-1}$)	Fração molar do complexo fr.100	K_a mol/L
PMX	$3,8 \pm 0,050$	-	-
HP-β-CD	$2,0 \pm 0,020$	-	-
PMX:HP-β-CD	$2,5 \pm 0,030$	72	923,1

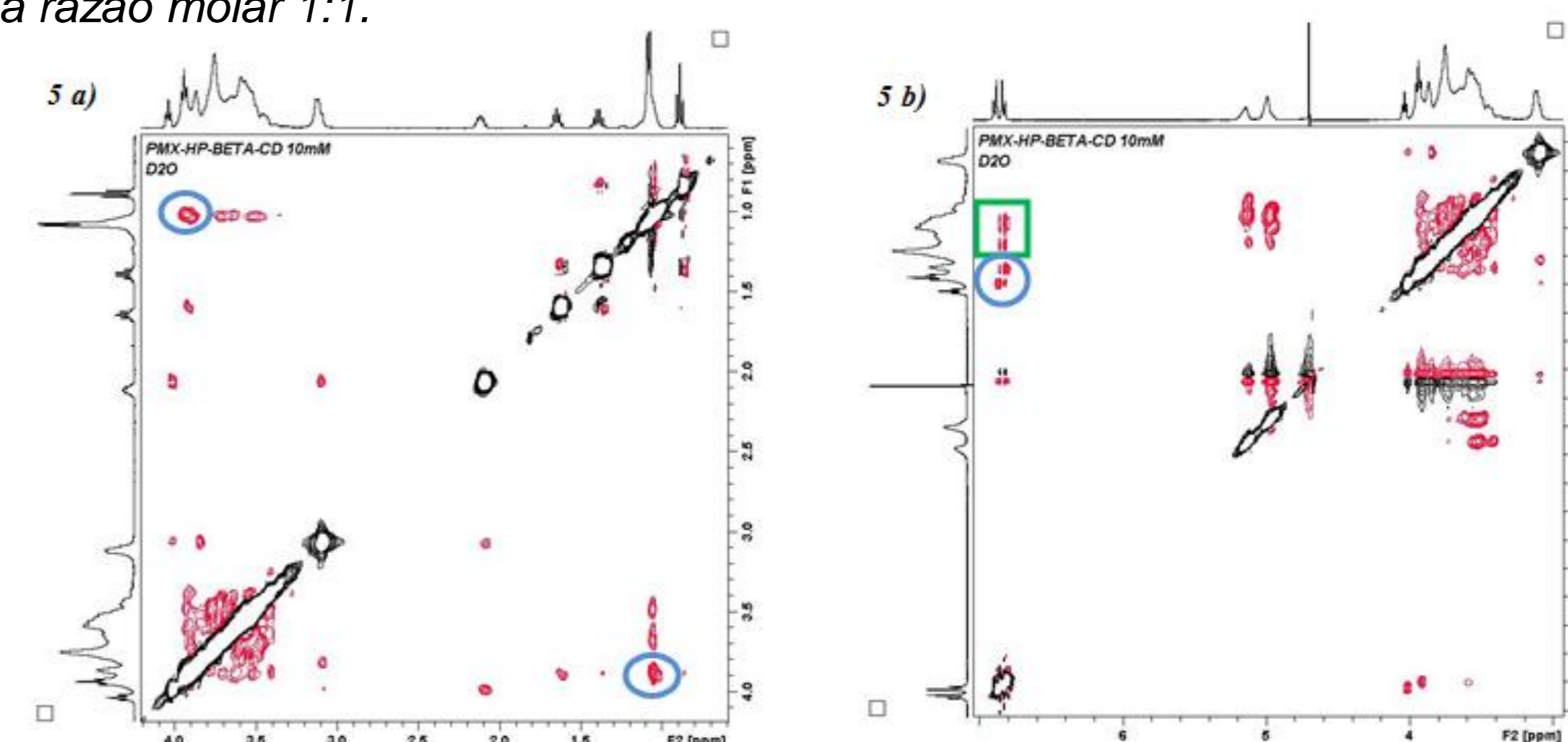


Figura 5: Expansões de espectros de ROESY (¹H-RMN) do complexo PMX:HP-β-CD, mostrando interações intermoleculares entre H4 da PMX e HP-β-CD, em azul (a); e entre aromáticos do anestésico e a cavidade (H3-H5) da HP-β-CD (b), em verde.

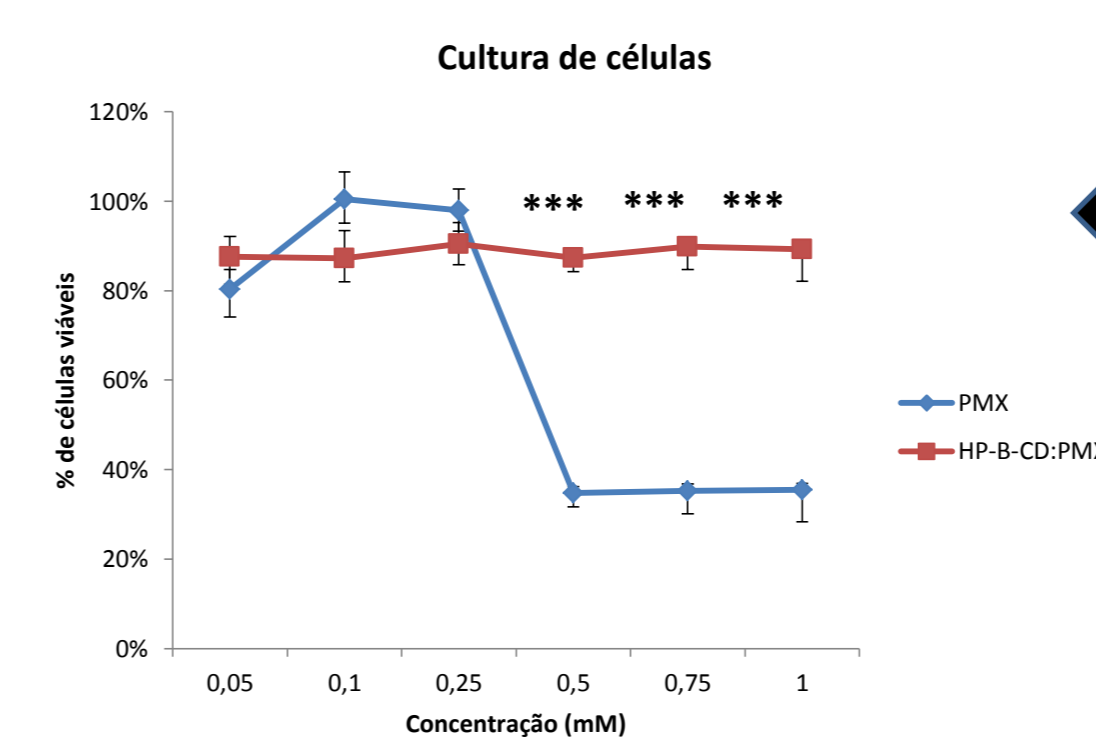


Figura 6: Viabilidade celular (% teste do MTT) de fibroblastos 3T3 tratados com pramoxina livre complexada. Análise estatística: PMX vs PMX:HP-β-CD, teste T não-pareado: (***) = $p < 0,001$. $n=3$ experimentos.

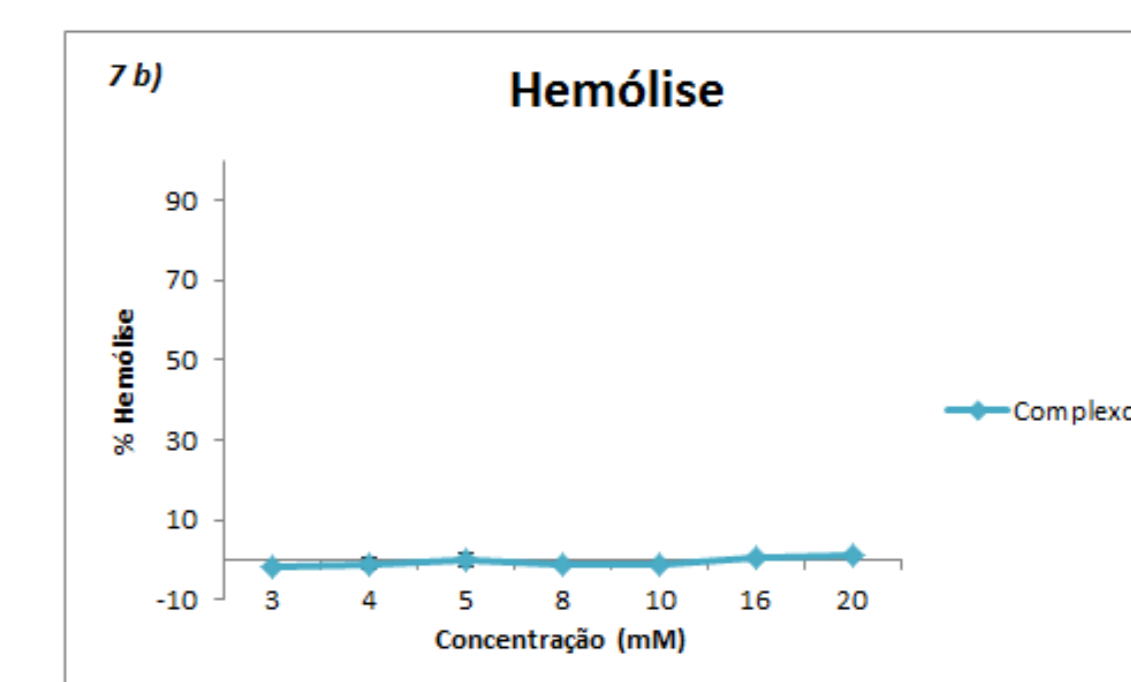
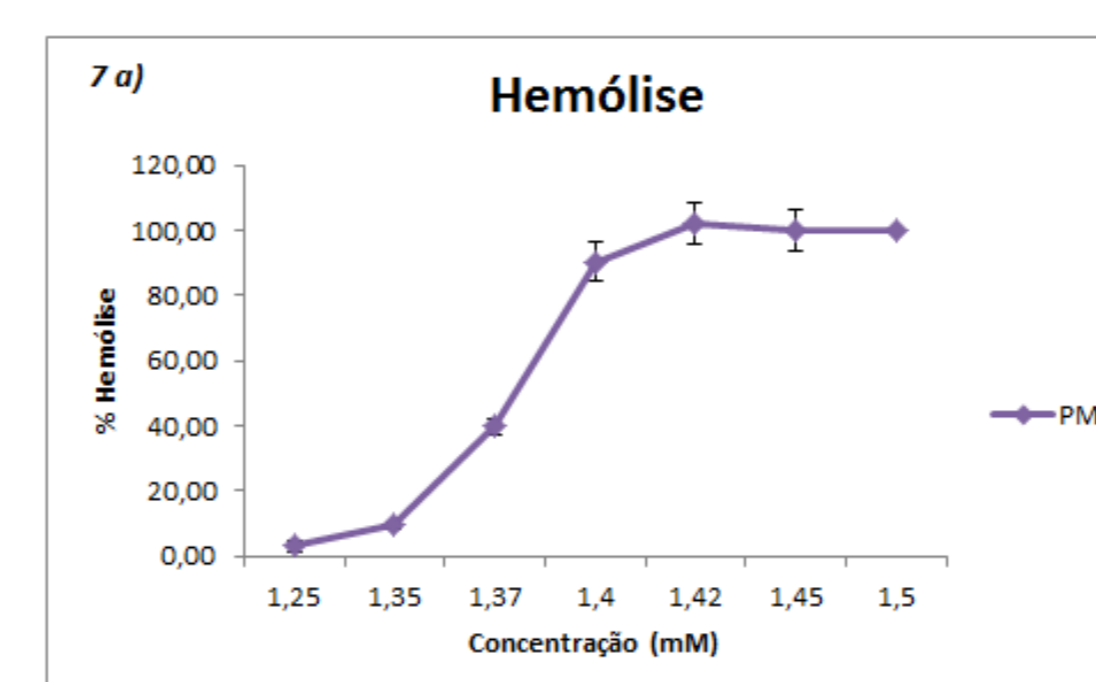


Figura 7: Efeito hemolítico da PMX (a) e do complexo PMX:HP-β-CD (b) sobre eritrócitos humanos incubados a 37°C por 15min em condições isotônicas. Hematócrito 0,15%, PBS pH 7,4.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram a formação de complexo de inclusão entre PMX e HP-β-CD: - A fluorescência da PMX foi usada para determinar a estequiometria (1:1) da complexação. - Variações nos deslocamentos químicos dos hidrogênios 8, 11 e aromáticos da PMX na presença de HP-β-CD deram as primeiras evidências, por ¹H-RMN, da formação do complexo de inclusão. Medidas com campo magnético variável (Tab. 2) permitiram determinar a constante de associação ($K_a = 923,1$ mol/L), evidenciando alta afinidade da PMX pela HP-β-CD. Finalmente medidas do efeito nuclear Overhauser (Fig. 5) indicaram inserção da PMX na cavidade da HP-β-CD, bem como a formação de pontes de hidrogênio, no exterior da HP-β-CD. - Testes de toxicidade *in vitro*: ensaios com células 3T3 em cultura (Fig. 6) e de lise de eritrócitos humanos revelaram diminuição da toxicidade da PMX quando complexada com HP-β-CD. Desta forma podemos concluir que o complexo PMX:HP-β tem potencial uso clínico, pois diminui a toxicidade intrínseca da pramoxina *in vitro*. Para tanto, são necessários estudos *in vivo* para avaliar a atividade antinociceptiva desta nova forma farmacêutica.

REFERÊNCIAS: 1-Cateral & Mackie in Goodman & Gilman's 11ª ed., 279, 2007; 2-Brunton et al. in Goodman & Gilman's, 12ª ed., 574, 2011; 3-Wimmer, R. et al. Carbohydr. Res. 337: 841, 2002.