

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE SISTEMAS POLIMÉRICOS CONTENDO ISOTRETINOINA

TEIXEIRA, Patrícia R.¹; DINIZ, Danielle G. A.²; LIMA, Eliana M.³

¹ Mestranda em Ciências Farmacêuticas / FF / UFG

² Doutoranda em Ciências da Saúde / UFG/UnB/UFMS

³ Orientadora. Lab. Tecnologia Farmacêutica, Fac. Farmácia / UFG. emlima@farmacia.ufg.br

Palavras-chave: Nanocápsulas, Isotretinoína, PLA e PLGA.

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

Devido às suas significantes atividades na modificação da resposta biológica, os retinóides são usados principalmente para tratamento de várias doenças que necessitam de uma modulação na diferenciação celular, sendo alvo de intensa pesquisa contra o câncer. O derivado retinóide Isotretinoína é um potente inibidor da proliferação de células neoplásicas, sendo utilizado tratamento de leucemias e neoplasias mais comuns (Goodman, 2003).

Recentemente, propriedades especiais e a vasta aplicação das nanopartículas têm despertado o interesse sobre as nanocápsulas poliméricas como sistema de liberação controlada de drogas (Lu, 1999). Nanopartículas têm sido utilizadas com sucesso para grande variedade de fármacos e substâncias biologicamente ativas, incluindo enzimas, hormônios, antibióticos, anticancerígenos, antifúngicos, antiparasitários, antiinflamatórios, analgésicos, quimioterápicos e como agentes de diagnósticos. A encapsulação de compostos tóxicos ou lábeis dentro destes carreadores poliméricos previne a degradação da droga, preservando sua atividade (Perachia et al., 1997).

A produção de nanopartículas na faixa de 100 –150nm é interessante desde que os carreadores estejam localizados no sítio alvo fora do sistema vascular, alguns tumores que possuem micro-vascularização defeituosa exibem uma permeabilidade vascular aumentada favorecendo o acesso destes carreadores coloidais para as células tumorais extra-vasculares (Douglas et al, 1987).

As nanocápsulas contendo Isotretinoína, um fármaco fotossensível e potencialmente tóxico, são constituídas de um filme polimérico biodegradável, com o objetivo de avaliar a estabilidade da suspensão e do fármaco de acordo com as suas características físico-químicas, relacionar fatores que influenciam diretamente na obtenção de um sistema mais estável e obter uma maior eficiência de encapsulação, se tornando vantajoso em vários aspectos a sua encapsulação, principalmente para diminuir sua toxicidade e aumentar a sua especificidade no tratamento ao contrário dos tratamentos convencionais. Este trabalho visa desenvolver e caracterizar um Sistema de Liberação Controlada do derivado retinóide Isotretinoína na forma de nanocápsulas estáveis com uma eficiência de encapsulação máxima satisfatória para futuramente dar continuidade e obter a estabilidade a longo prazo, a cinética de liberação *in vitro* e estudo *in vivo*.

As propriedades farmacêuticas das micro/nanopartículas podem ser determinadas por vários fatores (L.Mu et al, 2003):

- ❖ Natureza, solubilidade e encapsulação da droga
- ❖ Tipo de polímero (peso molecular e composição)
- ❖ Propriedades do solvente orgânico
- ❖ Concentração e proporção da mistura das fases aquosa e oleosa
- ❖ Natureza e concentração do emulsificante
- ❖ Força mecânica de partilha / agitação
- ❖ Outras condições como temperatura e pH
- ❖ Proporção de material matriz e emulsificante / estabilizante / aditivo

2. Material e Métodos

2.1 PREPARO DAS NANOCÁPSULAS

Nanocápsulas contendo isotretinoína foram obtidas segundo o método de deposição interfacial de polímero pré-formado, proposto por Fessi *et al* (1989). Uma preparação oleosa (fase orgânica), diluída em acetona, constituída de PLA, fosfolipídio de soja, óleo de soja e isotretinoína é introduzida lentamente em uma solução aquosa (fase aquosa), previamente preparada. Esta fase aquosa foi constituída de tampão IPB pH 7,4 e de um tensoativo hidrofílico (Poloxamer 188) e mantida sob agitação moderada antes e depois da adição da fase orgânica. A adição da fase orgânica à fase aquosa foi realizada através de gotejamento lento e gradativo, a fim de que as nanocápsulas fossem formadas sob forma homogênea. As nanocápsulas formadas imediatamente após a mistura permaneceram sob agitação mecânica por um período de 30 minutos. O produto obtido foi uma dispersão coloidal.

2.1.2 Estabilidade Físico-química e Estudo Acelerado da Estabilidade das Nanocápsulas

As suspensões de nanocápsulas obtidas, após a evaporação do solvente orgânico, foram avaliadas quanto ao aspecto de estabilidade físico-química, através da utilização dos testes de envelhecimento acelerado (escolha da melhor formulação durante o processo de otimização) para futuramente dar continuidade aos testes de envelhecimento a longo prazo (acompanhamento da estabilidade selecionada em tempo real). Estes testes têm como objetivo principal submeter as preparações às condições de estresse para simular processos de esterilização, transporte e armazenamento. Nesta etapa, as nanocápsulas são analisadas pelas seguintes metodologias (Santos *et al*, 2005): Resistência à centrifugação; Aspecto macroscópico; Aspecto microscópico; Estudo da variação do pH.

O tamanho médio das partículas e a homogeneidade das populações formadas foram determinados por *light scattering* (Zetasizer Nano, Malvern), o que indicou a melhor forma de obter sistemas poliméricos com uma média de tamanho e PDI bem definidos e conseqüentemente garantir suspensões mais estáveis.

3. RESULTADOS

3.1 Avaliação de formulações contendo PLGA ou PLA e diferentes concentrações de isotretinoína

Tabela 1. Estabilidade acelerada das nanocápsulas contendo isotretinoína

Formulação	Macroscopia	Microscopia	Centrifuga	pH
NC-ISO 01 1mg/mL PLGA 50:50	Aspecto leitoso, opalescente, cor amarelo pálido, reflexo azul e ausência de grumos ou resíduos visíveis	Presença de agulhas/cristais de isotretinoína, Ausência de gotículas de óleo e vestígios de polímeros, raras microcaps e multidão de nanocaps	Presença de cremagem e precipitados creme e amarelo alaranjado (isotretinoína) redispersíveis	7,23
NC-ISO-2 0,5mg/mL PLGA 50:50	Aspecto leitoso, opalescente, cor amarelo pálido, reflexo azul, ausência de grumos ou resíduos.	Ausência de agulhas/cristais de isotretinoína, de gotículas de óleo e vestígios de polímeros, várias microcaps e multidão de nanocaps	Presença de precipitado creme e leve cremagem no sobrenadante redispersíveis	7,36
NC-ISO-3 0,1mg/mL PLGA 50:50	Aspecto leitoso, opalescente, cor amarelo pálido, reflexo azul, ausência de grumos ou resíduos	Ausência de agulhas/cristais de iso, de gotículas de óleo e vestígios de polímeros, multidão de micro e nanocapsulas	Ausência de cremagem e presença de precipitado creme redispersível	7,40
NC-ISO19 0,5mg/mL PLA	Aspecto leitoso, opalescente, cor amarelo pálido, reflexo azul, ausência de grumos ou resíduos	Ausência de agulhas/cristais de iso, gotículas de óleo e vestígios de polímeros, multidão de nanocaps e muitas microcaps	Ausência de cremagem e presença de precipitado creme redispersível	7,5
NC-ISO22 0,5mg/mL PLA	Aspecto leitoso, opalescente, cor amarelo pálido, fluorescência, ausência de gotículas de óleo, grumos ou resíduos	Ausência de agulhas/cristais de iso, gotículas de óleo e vestígios de polímeros, multidão de nanocaps e raras microcaps	Presença de cremagem sobrenadante e presença de um leve precipitado creme redispersível	7,3

3.2 Tamanho da partícula e homogeneidade das populações

Tabela 2. Avaliação do tamanho médio da partícula e polidispersibilidade antes (suspensão pré-centrifuga) e após centrifugação (sobrenadante e precipitado) a 2000rpm/1h da NC ISO 19:

NC- ISO 19 [0,5mg/mL]	Antes da centrifuga	Sobrenadante Pós centrifuga	Precipitado Pós centrifuga
Tamanho médio (nm)	267,1	217,7	372,5
PDI	0,28	0,203	0,34
Intensidade (%) nm	Pico 1 (95,6%) 332,4 Pico 2 (4,4%) 4614	(100%) 230,5	(90,11%) 463,4 (6,76%) 112,7 (3,12%) 5057

Tabela 3. Comparação do tamanho médio das gotículas formadas na emulsão e das partículas obtidas na suspensão após rotaevaporação (formulação com acréscimo de 10% de poloxamer 188):

NC- ISO 22 [0,5mg/mL]	Antes de rotaevaporar	Após rotaevaporar
Tamanho médio (nm)	172,nm	173,2nm
PDI	0,1	0,1
Intensidade (%) nm	Pico 1 (100%) 197,6nm	Pico1 (100%) 206nm

Tabela 4. Avaliação do tamanho médio da partícula e o PDI da NC-ISO25 (formulação sem acréscimo de poloxamer 188):

NC- ISO 25 [0,5mg/mL]	
Tamanho médio (nm)	172,9nm
PDI	0,1
Intensidade (%) nm	Pico 1 (100%) 192,2nm

4.DISSCUSSÃO

A importância de produzir nanopartículas menores que 200nm para aumentar a estabilidade da suspensão, fornece parâmetros relevantes para otimizar condições de produzir nanopartículas de tamanho menor que 200nm (Yvette N. Konam et al, 2002):

- Concentração do colóide estabilizante da fase aquosa
- Velocidade de agitação (aumento da velocidade, redução da partícula)
- Tempo de agitação
- Porcentagem do polímero na fase orgânica
- Natureza do solvente

A otimização da formulação pode ser dada com o aumento da concentração de surfactante hidrofílico e redução do tamanho médio das partículas, menores que 200nm, o emulsionante permanece na interface que separa as fases água e óleo e partículas menores possuem maior superfície total de área e precisam de mais emulsionante, pouco emulsionante poderá resultar em não formação de nanopartículas e muito emulsionante poderá resultar em agregação das partículas (L.Mu et al 2003).

Os resultados obtidos pré e pós centrifugação da NC-ISO19 (tabela 2) demonstraram que o tamanho médio das partículas não alterou significativamente, mas o precipitado creme redispersível obtido após a centrifugação são microcápsulas e nanocápsulas aglomeradas, esta observação foi confirmada pela microscopia óptica, pois as lâminas que contém microcápsulas são apenas da suspensão pré-centrífuga e do precipitado pós-centrífuga ressuspensão e no sobrenadante pós-centrífuga elas rarearam ou desapareceram. Para tentar diminuir o tamanho médio das partículas, a formação de microcápsulas e o PDI (obtido um aumento na homogeneidade das populações obtidas) foram feitas algumas alterações nas formulações e no processo que estão descritas a seguir;

Na formulação da NC-ISO22 foi aumentada a concentração do surfactante hidrofílico poloxamer 188 em 10% e reduzido o tamanho das gotículas formadas durante o processo de emulsão após a centrífuga obtendo muito menos precipitado creme mas, uma cremagem sobrenadante que não aparecia antes (ver tabela 1), apontando ser excesso de surfactante e o tamanho médio e o PDI reduziram bastante conforme descrito na tabela 3.

A tabela 3 (NC-ISO22) também demonstra que o processo de emulsão é fundamental para se obter uma maior homogeneidade de populações formadas (menor PDI) e menor média de tamanho possível das partículas formadas após a rotaevaporação.

Na NC-ISO25 foi alterado apenas o tamanho reduzido das gotículas formadas durante o processo de emulsão (tabela 4), demonstrando que os 10% de poloxamer acrescentado na suspensão anterior (NC-ISO22) não influenciou na

redução do tamanho médio das partículas e o tamanho da gotícula formada durante o processo de emulsão foi suficiente para obter a redução de tamanho e uma suspensão mais homogênea após rotaevaporar.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que o tamanho médio das gotículas formadas durante o processo de emulsão é fundamental para obter uma determinada faixa de tamanho requerida e populações de nanocápsulas mais homogêneas com um índice de polidispersão ou PDI mínimo após rotaevaporar.

A suspensão de nanocápsulas com isotretinoína na concentração de 0,5mg/mL, foi a melhor formulação obtida, não havendo a necessidade de aumentar o surfactante hidrofílico para melhorar sua estabilidade e reduzir a formação de microcápsulas que precipitam no teste da centrífuga.

5. REFERÊNCIAS

1. DOUGLAS, R.L., DAVIS, S.S., ILLUM, L., Nanoparticles in drug delivery. CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier System. 3, p. 233-260, 1987.
2. FESSI H., F.PUISIEUX, J.PH. DEVISSAGUET, N. AMMOURY, S. BENITA, Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. International Journal of Pharmaceuticals,55 (1989) R1-R4;
3. GOODMAN, A.G. As Bases Farmacológicas da Terapêutica, 10^oEd. , p.1334 – 1353, 2002
4. YVETTE N. KONAN, ROBERT GURNY, ERIC ALLÉMANN, Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200nm nanoparticles. International journal of pharmaceuticals 233, p.239-252, 2002.
5. MU, L; FENG, S.S. A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol®): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS. *J. Control. Rel.* v. 86, p. 33-48, 2003.
6. SANTOS,N. P., S.C. NASCIMENTO, J. F. SILVA, E.C.G. PEREIRA, N.H. SILVA, N.K. HONDA, N. S. SANTOS – MAGALHÃES. Usnic acid-loaded nanocapsules: an evaluation of toxicity. *Journal Drug Delivery Science Technology*, p.355-361, 2005.