

ESTUDO DA ENCAPSULAÇÃO DA ISOTRETINOÍNA EM LIPOSSOMAS, CICLODEXTRINAS E CICLODEXTRINAS-LIPOSSOMAS.

RODOVALHO, Luciana F F¹; DINIZ, Danielle G A²; LIMA, Eliana Martins³

Palavras-chave: Isotretinoína, Lipossomas, Ciclodextrinas, Estabilidade.

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

Os lipossomas e as ciclodextrinas têm sido amplamente estudados como sistemas capazes de alterar as características originais de diversos fármacos podendo levar a significativas alterações em suas propriedades físico-químicas e até mesmo farmacológicas e farmacocinéticas. Sua aplicação está intimamente ligada à capacidade de solubilização, estabilização e liberação nos diversos tecidos (Koo et al, 2005).

Existem fármacos cuja terapêutica já comprovada, apresentam dificuldades técnicas para a administração diferente às das utilizadas nas formas convencionais comercializadas. É o que ocorre com a isotretinoína, cuja administração convencional é oral para o tratamento da acne (Roche Pharmaceuticals, 2006). O maior desafio das terapias à base de retinóides é sua estabilização para aplicação tópica, o que reduziria seu potencial tóxico durante o tratamento, principalmente hepatotoxicidade e teratogenicidade (Manconi *et al*, 2002, Yap *et al*, 2005). A inclusão da isotretinoína em ciclodextrinas e sua posterior encapsulação em lipossomas é a proposta deste trabalho. Os sistemas assim desenvolvidos, cuja liberação controlada diretamente no local de aplicação tópica, pode apresentar vantagens do ponto de vista da estabilidade do fármaco e de sua eficácia terapêutica (loele, 2005).

2. METODOLOGIA

2.1 PREPARO DAS CILCODEXTRINAS

O complexo de inclusão da Isotretinoína em ciclodextrinas será obtido em solução tampão fosfato em diferentes valores de pH (pH = 5,9; 7,4 e 8,1). Excesso de Isotretinoína (10 mg /ml) será adicionado à solução de ciclodextrina na concentração de HP- β -CD de 0,30M, sendo em seguida a suspensão agitada em um agitador de rotação horizontal com velocidade de 400 rpm por 8 dias. A suspensão resultante será filtrada em membrana de 0,45 μ m para obtenção de uma solução clara. As amostras serão feitas em triplicata. Dessa forma, obteremos uma solução de 10 mg/ml de Isotretinoína em 0,30 M de HP- β -CD em pH 8.1. A concentração da isotretinoína na inclusão do complexo será determinada por CLAE.

2.2 PREPARO DOS LIPOSSOMAS

Os lipossomas serão preparados por hidratação do filme lipídico seco contendo o fármaco. Sob agitação o filme lipídico se desprende das paredes do balão e lipossomas multilamelares serão formados. Um tratamento posterior, por ultrassom, levará à obtenção de vesículas unilamelares. As moléculas de fármaco não encapsulado serão removidas por filtração em gel. A quantidade de fármaco introduzido nas vesículas lipossômicas será determinada pela técnica de cromatografia de exclusão em coluna. A cromatografia de exclusão será o método utilizado devido a sua simplicidade, adaptabilidade a vários tipos de preparações, reprodutibilidade e aspecto quantitativo. Também será determinada a fração de fármaco encapsulado, tratando-se a formulação com tensoativo, promovendo desta forma a ruptura dos lipossomas e completa liberação do fármaco no meio aquoso circundante. Realizando-se posteriormente ensaio quantitativo por cromatografia líquida de alta eficiência.

2.3 INCLUSÃO DE ISOTRETIONINA - CICLODEXTRINAS EM LIPOSSOMAS

Os lipossomas serão preparados por hidratação do filme lipídico seco. A hidratação do filme será feita a partir da solução de 10 mg/ml de Isotretinoína em 0,30 M de HP- β -CD em pH 8.1. Um tratamento posterior, por ultra-som, levará à obtenção de vesículas unilamelares. As moléculas de fármaco não encapsulado serão removidas por filtração em gel, realizando-se posteriormente ensaio quantitativo por cromatografia líquida de alta eficiência.

2.4 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO EM CICLODEXTRINAS E LIPOSSOMAS

A eficiência de incorporação da isotretinoína nas ciclodextrinas e lipossomas, expressada em porcentagem do total de isotretinoína utilizada inicialmente, será determinada por CLAE. A determinação nos lipossomas será feita após a ruptura das vesículas com 0,025% de Triton X-100. O conteúdo de Isotretinoína será determinado em um comprimento de onda de 340 nm usando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

2.6 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE

O método inicial foi baseado no trabalho de Tan e col. (1992), cuja coluna utilizada foi Hyperesil ODS C18 (4,6 x 15 cm), fase móvel acetonitrila:acetato de amônio 1% (95:5), e detector ultravioleta com comprimento de onda de 280 nm. O método, porém foi otimizado modificando-se a fase estacionária, a temperatura da coluna e a fase móvel em diversas tentativas. Enfim a metodologia desenvolvida tem as seguintes especificações: cromatógrafo Varian com coluna Microsorb MV 100 5 μ m C8 (250 mm x 4,6 mm); fluxo: 1,0 ml / min; detector: UV; comprimento de onda: 340 nm; fase móvel: acetonitrila:acetato de amônio 1% (95:5); temperatura de análise: 25°C. Este método encontra-se em fase final de validação, e os resultados têm sido satisfatórios, já que o mesmo demonstra ser linear ($r=0,9999$) e seletivo (figura 1), faltando apenas a precisão, exatidão e robustez para ser concluído.

2.7 VEÍCULOS PARA APLICAÇÃO TÓPICA

Serão utilizadas as fórmulas abaixo mencionadas para a incorporação das formas encapsuladas contendo Isotretinoína na concentração de 0,05%. Em todas as formas serão utilizados como agentes coadjuvantes do veículo o alfa tocoferol (vitamina E), como anti-oxidante (Topelogiou Y., Yener G), o EDTA como quelante, e a lecitina de soja como estabilizante.

2.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE

O estudo de estabilidade seguirá o Guia de Avaliação de Estabilidade da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). A estabilidade das formas encapsuladas e da aplicação das formas encapsuladas em diferentes veículos será avaliada.

3. DESAFIOS E PERSPECTIVAS

O desafio deste trabalho é desenvolver um sistema transportador de fármaco, através da nanotecnologia, capaz de manter a estabilidade da isotretinoína dentro de limites aceitáveis para medicamentos, possibilitando a obtenção de um sistema de liberação para a aplicação tópica do ácido 13-*cis*-retinóico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA. *Guia de estabilidade de produtos cosméticos*. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Séries Temáticas, v.01. 2004
- IOELE G. ET AL. *Accelerated photostability study of tretinoin and isotretinoin in liposome formulation*. Int. J. Pharmac. V. 293, p. 251-260, 2005.
- KOO M. O. ET AL. *Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review*. Nanomedicine: nanotechnology, biol Isotretinoína edicine, p. 193-212, 2005.
- MANCONI M., VELENTI D., SINICO C. *Nanosomes as carriers for tretinoin. II. Influence of vesicular incorporation on Metanol photostability*. Intern. J. Pharmc. Tretinoína . 261-272, 2003.
- ROCHE Pharmaceuticals. *Retin-A-Cin (isotretinoína)*. Disponível em: <http://www.roche.com.br>. Acesso em: mar 2006.
- TOPELOGIU Y., YENER G. *Photostability of some vehicles and antioxidants used in topical preparations*. University of Istambul, Beyazit 34452 Istambul, Turkey.
- YAP K.L., LIU X., THENMOZHIAL, HO P.C. *Characterization of the 13-cis-retinoic acid / cyclodextrin inclusion complexes by phase solubility, photostability, physicochemical and computational analysis*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 25 p. 49-56, 2005.

¹Aluna de Mestrado do Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas (UFG). Faculdade de Farmácia - FARMATEC - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, luciana.rodvalho@hotmail.com

²Aluna de Doutorado do Programa de Pós graduação em Ciências da Saúde (UFG / UNB / UFMS). Faculdade de Farmácia - FARMATEC - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, danielle@farmacia.ufg.br

³ Orientadora /Faculdade de Farmácia / UFG, emlima@farmacia.ufg.br