



INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS EM FORMA FARMACÊUTICA DE USO TÓPICO PARA CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS

Palavras-Chave: DESENVOLVIMENTO FARMACÊUTICO; QUEIMADURAS; NANOPARTÍCULAS; FORMULAÇÃO TÓPICA

Autores(as):

Vitória Eduarda Fassini, FCF – UNICAMP

M^a. Janaína Artem Ataíde, FCF - UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Priscila Gava Mazzola (orientadora), FCF – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

As queimaduras são lesões com níveis variados de perda tecidual que, dependendo da profundidade e extensão, podem chegar a comprometer a integridade funcional da pele e estão entre as principais causas externas de morte registradas no Brasil devido às infecções que evoluem com septicemia, dentre elas, as contaminações por *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida sp*. A fim de tratar as infecções microbianas e as antifúngicas, serão utilizados o antimicrobiano rifamicina e o antifúngico fluconazol. Com o intuito de melhorar os tratamentos já existentes e entregar os ativos de forma eficiente, o sistema de liberação nanoparticulado, como as nanocápsulas de núcleo lipídico, torna-se uma opção, dada sua capacidade de incorporação do fármaco bem como a possibilidade de liberação local-específica. Por fim, para entregar os ativos diretamente no local da ferida, é necessário utilizar uma forma farmacêutica de uso tópico, como os géis.

Desse modo, o projeto pretende desenvolver um produto farmacêutico de uso tópico para uso em queimaduras, visando a prevenção e tratamento de contaminações microbiológicas, alívio da dor e a cicatrização com o mínimo de formação de cicatriz. Para isso, será utilizada uma nanocápsula de núcleo lipídico formada com triglicerídeos, contendo rifamicina ou fluconazol. As nanocápsulas serão incorporadas em uma formulação em gel, a qual irá permitir melhor aderência da formulação no local e proporcionar sensação refrescante ao aplicar.

METODOLOGIA:

Para a obtenção da formulação semissólida, utilizou-se o gel de natrosol (Tabela 1) como base para a posterior incorporação das nanocápsulas.

Tabela 1: Formulação do gel de natrosol base

Composição	%
Natrosol	1,0
EDTA	0,1
Água	63,0
Propilparabeno	0,1
Metilparabeno	0,2
Propilenoglicol	35,0
Solução de imidazolidinil ureia 50%	0,6

Testou-se a estabilidade de três triplicatas desta formulação em temperatura ambiente e três triplicatas alternando entre geladeira (5 ± 2 °C) e câmara climática (40 °C e 75% umidade relativa), de forma a ficarem 24 h em cada uma dessas condições. Os ensaios de avaliação macroscópica, pH, densidade e viscosidade foram realizados durante 15 dias consecutivos.

As propriedades mecânicas da formulação semissólida foram avaliadas usando um analisador de textura TA.XT Plus (Stable Micro Systems Ltda., Godalming, Reino Unido) com uma plataforma Back Extrusion Rig.

Quanto à preparação das nanocápsulas, 100 mg de poli(ϵ -caprolactona) (PLC), 38 mg de span 60, 160 μ L de óleo líquido e 10 mg de fármaco foram dissolvidos em 27 mL de acetona a 40 °C, e 77 mg de Tween 80 foram dissolvidos em 53 mL de água a 40 °C. A fase oleosa foi vertida sob a fase aquosa e mantida a 40 °C sob agitação magnética por 10 minutos. A acetona foi eliminada e a suspensão concentrada até volume final de 10 mL sob aquecimento a 40 °C e vácuo em rotaevaporador.

Estas foram analisadas quanto a distribuição de tamanho e potencial zeta, o qual representa a carga superficial. O diâmetro médio e a distribuição de tamanho foram avaliados por meio de medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS, *dynamic light scattering*), utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument).

Após adicionar as nanocápsulas no gel, seria necessário extrair os ativos e quantificá-los, a fim de determinar quanto foi encapsulado. Para isso, foi feito um teste de extração dos ativos a partir do gel com rifamicina. Uma solução de rifamicina livre foi adicionada ao gel e, em seguida, adicionou-se acetonitrila. O mesmo foi feito utilizando nanocápsula de rifamicina. Após 30 minutos em banho de ultrassom, as soluções foram filtradas e suas absorvâncias lidas em espectrofotômetro em 316 nm.

Com o intuito de utilizar o equipamento LUMiSizer, o qual analisa a velocidade de sedimentação e a estabilidade das formulações, realizou-se um teste preliminar de 6 h em centrífuga a 2300 g. Esse experimento foi feito tanto nas nanocápsulas quanto nos géis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A formulação semissólida de uso tópico utilizada seria o gel de natrosol descrito na Farmacopéia Brasileira 2ª edição. Contudo, após o gel atingir a temperatura ambiente, notava-se a formação de partículas sólidas (Figura 1).

A fim de descobrir se algum dos componentes da formulação estava causando isso, testou-se diferentes formulações. Após muitas tentativas, foi possível concluir que o metilparabeno e o propilparabeno eram os responsáveis pela formação dos cristais. Utilizando o *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, notou-se que a solubilidade destes compostos em água, o componente do gel em maior proporção, era muito baixa, fazendo com que eles não solubilizassem. Isso explicava,

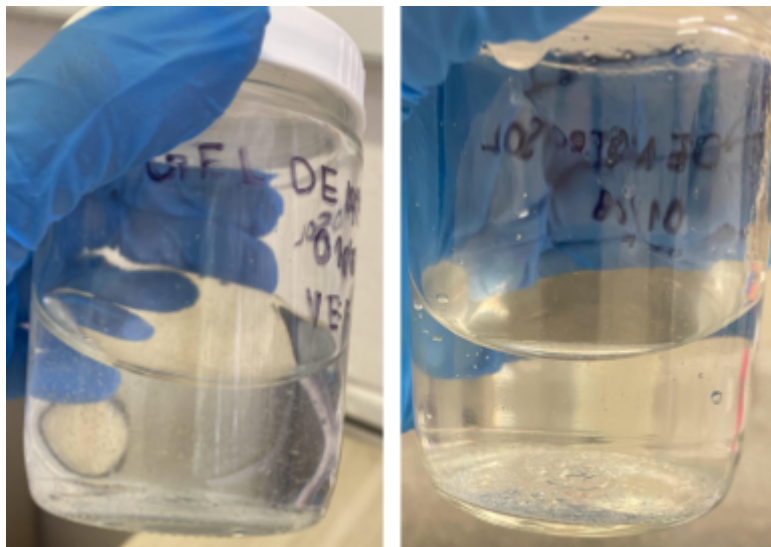


Figura 1: Gel com os cristais

também, o porquê os cristais não estavam presentes enquanto o gel estava sob aquecimento, já que a solubilidade destes compostos é aumentada nessa condição.

Contudo, o metilparabeno e o propilparabeno apresentam boa solubilidade em propilenoglicol. Dessa forma, optou-se por testar formulações com maiores proporções do mesmo. Ao final, notou-se que era necessário utilizar 35% de propilenoglicol na formulação final para possibilitar o estudo de estabilidade preliminar.

Após os 15 dias consecutivos de análise de pH, densidade e viscosidade, apenas os resultados da última apresentou diferença superior a 10% do valor de viscosidade do dia inicial. Isso pode ser explicado pelo fato do gel ter hidratado por apenas 24 h, demonstrando a necessidade de um período de hidratação maior para que, desse modo, todo natrosol esteja solubilizado antes de iniciar os testes. Em relação ao pH, este se manteve por volta de 5,2, enquanto a densidade foi de 1,04 g/mL. Além disso, durante todo o estudo de estabilidade, não houve nenhum tipo de precipitado, comprovando que o aumento de propilenoglicol na formulação resolveu este empecilho.

Quanto às propriedades mecânicas do gel de natrosol sem a incorporação de nanopartículas, obteve-se os seguintes resultados (Tabela 2):

Tabela 2: Propriedades mecânicas do gel de natrosol

	Firmeza (g)	Consistência (g.s)	Coesão (g)	Trabalho de coesão (g.s)	Firmeza (g)	Trabalho de cisalhamento (g.sec)
Média	45,69	45,69	45,69	45,69	45,69	45,69
Desvio padrão	3,65	3,65	3,65	3,65	3,65	3,65

Como explicado, novos *batches* de nanopartículas foram feitos e caracterizados (Figura 2), a fim de verificar a qualidade e estabilidade. Todas formulações apresentaram potencial zeta negativo, o que é esperado dado à estrutura química da poli(ϵ -caprolactona).

O diâmetro médio também estava de acordo com a literatura, ficando na maioria das formulações descritas em torno de 200 nm.

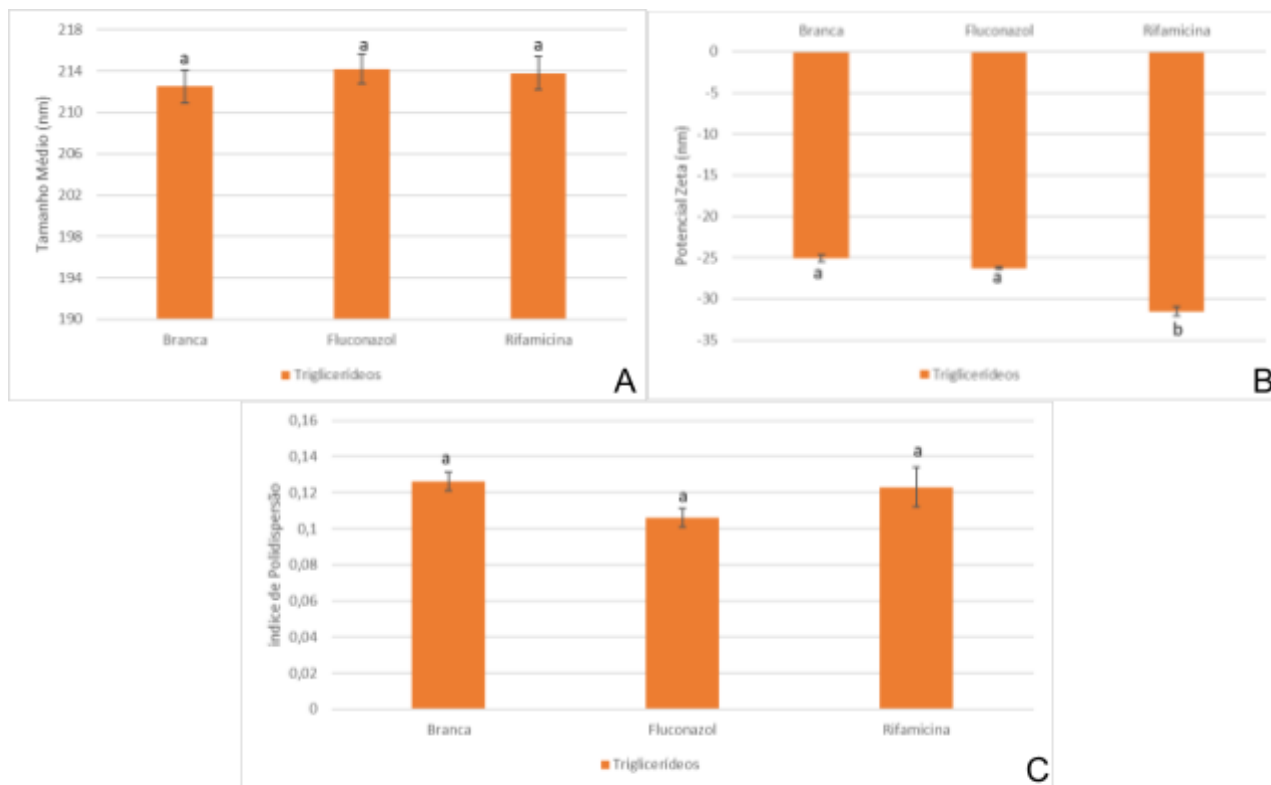


Figura 2: Zetasizer nanopartículas branca, fluconazol e rifamicina quanto a tamanho médio (A), potencial zeta (B) e índice de polidispersão (C)

Era necessário definir um método para determinar a quantidade de ativo encapsulado após a adição das nanopartículas no gel de natrosol e, para isso, era preciso extrair os fármacos da matriz do gel e das nanocápsulas utilizando acetonitrila. Utilizou-se um espectrofotômetro para realização das leituras, as quais foram feitas em 316 nm. Foi possível determinar grande parte do ativo, tanto na solução de rifamicina livre, quanto das nanocápsulas de TG.

Quanto aos testes de estabilidade para a utilização do LUMiSizer, diferentes velocidades e tempos foram utilizados tanto para a suspensão de nanocápsulas quanto para os géis. E os parâmetros a serem utilizados serão a rotação a 2300 g por 6 h.

CONCLUSÕES:

Após muitas tentativas, foi possível desenvolver um gel de natrosol sem partículas não dissolvidas. Embora as análises de pH e densidade tenham ficado dentro do limite de variação de 10%, a viscosidade apresentou maiores diferenças, e isso se deu ao fato do gel não ter hidratado completamente, demonstrando a necessidade do gel hidratar por um período maior que 24 horas. Ainda em relação à estabilidade, foi possível definir os parâmetros para o teste a ser realizado no equipamento LUMiSizer; bem como definir um

método para determinar o ativo encapsulado no gel. Por fim, serão feitos testes com os fármacos encapsulados e não encapsulados no gel, utilizando o texturômetro, a fim de comparação.

BIBLIOGRAFIA

- Anvisa, 2010. **Farmacopeia Brasileira**, 2nd ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília.
- Contri, R. V.; Ribeiro, K. L. F.; Fiel, L. A.; Pohlmann, A. R. et al. **Vegetable oils as core of cationic polymeric nanocapsules: Influence on the physicochemical properties**. Journal of Experimental Nanoscience, 8, n. 7-8, p. 913-924, 2013.
- **Handbook of Pharmaceutics Excipients**. ed.5; p. 624-626,629-632, 466-470; 2006.
- Oliveira, C. P.; Venturini, C. G.; Donida, B.; Poletto, F. S. et al. **An algorithm to determine the mechanism of drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations**. Soft Matter, 9, n. 4, p. 1141-1150, 2013.
- Macedo, J, Santos, J. 2001. **Complicações infecciosas em pacientes queimados**. Revista Brasileira de Cirurgia Plástica 21(2): 108-111.
- Mehnert, W, Mäder, K. 2001. **Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications**. Advanced Drug Delivery Reviews 47(2): 165-196.
- Oliveira, F., Serra, M. 2011. **Infecções em queimaduras: revisão**. Revista Brasileira de Queimaduras 10(3): 96-99.
- Rigo, L. A.; Frescura, V.; Fiel, L.; Coradini, K. et al. **Influence of the type of vegetable oil on the drug release profile from lipid-core nanocapsules and in vivo genotoxicity study**. Pharmaceutical Development and Technology, 19, n. 7, p. 789-798, 2014.
- Venturini, C. G.; Jäger, E.; Oliveira, C. P.; Bernardi, A. et al. **Formulation of lipid core nanocapsules**. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 375, n. 1, p. 200-208, 2011.