DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ITRACONAZOL

Andressa Hoffmann Carneiro [1]

Luiz Torres Neto [2]

Gabriel Pedroso Viçozzi [3]

Riciele Moreira de Morais [4]

Eduardo André Bender [5]

Letícia Marques Colomé [6]

Resumo:

A incidência de infecções fúngicas que atingem seres humanos tem aumentado nos últimos anos. De maneira geral, o número de fármacos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas é limitado. Além disso, em muitos casos é necessário o uso de doses altas de antifúngicos por um período prolongado para que o objetivo terapêutico seja alcançado. É esperado que a aplicação destes regimes terapêuticos aumentam a ocorrência de reações adversas. Os danos hepáticos costumam ser comum a classe de antifúngicos e são mais evidente em pacientes apresentando sistema imunológico debilitado. Estudos revelam que esses medicamentos antifúngicos não satisfazem completamente as necessidades terapêuticas, devido a problemas relacionados ao espectro de ação, à toxicidade ou à resistência fúngica. Dentre as estratégias que podem melhorar a terapêutica e a eficácia no tratamento de doenças fúngicas, diminuir os efeitos adversos, reduzir dosagens e proporcionar menor incidência de resistência fúngica, está o desenvolvimento de novas formulações para veiculação de fármacos, podendo-se destacar a encapsulação de fármacos em nanopartículas. Levando em consideração o potencial uso de sistemas nanoestruturados, este trabalho teve como principal objetivo desenvolver e caracterizar nanocápsulas contendo o antifúngico itraconazol, como uma possível formulação para terapia antifúngica. A suspensão de nanocápsulas de Itraconazol (NCI) foram preparadas utilizando o método de deposição interfacial do polímero pré-formado. O tamanho de partícula foi avaliado pela técnica de difratometria de laser (DL) utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments). O diâmetro de partícula e o índice de polidispersão dos sistemas particulados (PDI) foram também obtidos através da técnica de espalhamento de luz dinâmico, (DLS). A determinação de pH foi realizada com potenciômetro (Hanna®). A NCI apresentou um aspecto homogêneo branco opalescente. O volume globular médio (D[4.3]) da suspensão de nanocápsulas variou de maneira considerável (1.301 ± 45,08 nm). Apesar disso, o diâmetro médio da suspensão (d0.5) foi de 289 ± 0,81 nm. Quando analisamos a polidispersão do sistema, observamos índice satisfatório de 1,610 ± 0,05. O pH da formulação demonstrou valores próximos da neutralidade (6,22 ± 0,08). A suspensão NCI demonstrou tamanho de partícula e polidispersão satisfatório de ambas análises realizadas (DL e DLS). Assim novas análises da suspensão de NCI serão realizadas, como eficiências de encapsulação, doseamento além da avaliação de sua estabilidade, dessa forma, apresentando uma formulação alternativa para terapia antifúngica.

Palavras-chave: NANOCÁPSULA; ITRACONAZOL; ANTIFÚNGICO

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ITRACONAZOL

[1] Aluno de graduação. andressacarneiro091288@gmail.com. Autor principal

[2] Aluno de Pós-graduação. torresneto1995@gmail.com. Co-autor

[3] Aluno de Pós-graduação. gabrie.vicozzi@gmail.com. Co-autor

[4] Aluna de Graduação. ricielemoreira@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. eduardobender@unipampa.edu.br. Orientador

[6] Docente. leticiacolome@unipampa.edu.br. Co-orientador

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ITRACONAZOL

1 INTRODUÇÃO

A incidência de infecções fungicas que atingem seres humanos tem aumentado nos últimos anos, tornando-se um grande desafio em relação aos altos número de casos e também pela sua alta taxa de mortalidade. A *Candida* spp. É o fungo mais comumente isolado e sua presença tem uma mortalidade associada entre 30% e 40% (ALTHUS *et al*., 2015; BANDEIRA *et al*., 2017).

De maneira geral, o número de fármacos disponíveis para o tratamento de infecções fungicas sistêmicas é limitado. Além disso, em muitos casos é necessário o uso de doses altas de antifungicos por um período prolongado para que o objetivo terapêutico seja alcançado. É esperado que a aplicação destes regimes terapêuticos aumentam a ocorrência de reações adversas. Os danos hepáticos costumam ser comum a classe de antifúngicos e são mais evidente em pacientes apresentando sistema imunológico debilitado (VAGHASIYA *et al*., 2013; SCHERER, 2017).

Entre as classes de antifúngicos estão os triazólicos, pertencentes ao grupo dos azólicos, que possuem como principais representantes o fluconazol, o itraconazol e o voriconazol (ANDRIOLE, 1999). Estudos revelam que esses medicamentos antifúngicos não satisfazem completamente as necessidades terapêuticas, devido a problemas relacionados ao espectro de ação, à toxicidade ou à resistência fungica (PEREIRA, 2017; SCHERER, 2017).

Dentre as estratégias que podem melhorar a terapêutica e a eficácia no tratamento de doenças fungicas, diminuir os efeitos adversos, reduzir dosagens e porporcionar menor incidência de resistência fúngica, está o desenvolvimento de novas formulações para veiculação de fármacos, podendo-se destacar a encapsulação de fármacos em nanopartículas (JAGER *et al*., 2015; MARTINS *et al*., 2017).

São descritos diferentes tipos de nanopartículas capazes de veincular os mais diferentes tipos de moléculas. Em especial, destacamos as nanocápsulas, que possuem um núcleo lipídico cercado por uma membrana polimérica onde o fármaco pode estar adsorvido ou dissolvido no núcleo. Desta forma, este pode ser considerado como um sistema de reservatório (JAGER *et al*., 2009; CODEVILLA *et al*., 2015). Dentro desta perspectiva, a utilização dessas estruturas nanocarreadoras atribu diversos benefícios, como redução do potencial tóxico, aumento da biodisponibilidade, aumento do índice terapêutico e redução dos efeitos colaterais (LIU *et al*., 2011). Levando em consideração o potencial uso de sistemas nanoestruturados, este trabalho teve como principal objetivo desenvolver e caracterizar nanocápsulas contendo o antifúngico itraconazol, como uma possível formulação para terapia antifúngica.

2 METODOLOGIA

2.1 Preparação das nanocápsulas

A suspensão de nanocápsulas de Itraconazol (NCI) foram preparadas utilizando o método de deposição interfacial do polímero pré-formado, inicialmente proposto por Fessi *et al.,* (1989). A fase orgânica foi composta por poli(ε-caprolactona) (PCL), triglicerídeo de cadeia média (TCM) como núcleo lipídico, tensoativo de baixo EHL monoestearato de sorbitano (Span 60), Itraconazol e acetona. Os componentes foram aquecidos a 40 °C em banho eletrostático para completa dissolução de todos os componentes.

A fase aquosa foi composta por água ultrapura e tensoativo de elevado EHL (polissorbato 80), sendo também mantido por agitação magnética em banho eletrostático sob

as mesmas condições de tempo e temperatura. Posteriormente a fase orgânica foi vertida, lentamente sob agitação moderada, através de um funil na fase aquosa, para formação das nanocápsulas, sendo sua agitação mantida por 10 minutos. Por fim, a solução foi concentrada a um volume final de 10 mL em evaporador rotatório, para eliminação do solvente orgânico e parte da água. Posteriormente as suspensões foram armazenadas e frascos âmbar, em temperatura ambiente, protegido da luz.

2.2 Caracterização da suspensão de nanocápsulas

O tamanho de partícula foi avaliado pela técnica de difratometria de laser (DL) utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments). Os dados de difração de laser obtidos foram avaliados utilizando o valor $D_{[4,3]}$, junto do valor de $d_{(0,5)}$ da distribuição. O valor de polidispersão (Span) também foi utilizado para a caracterização das formulações (Equação 1).

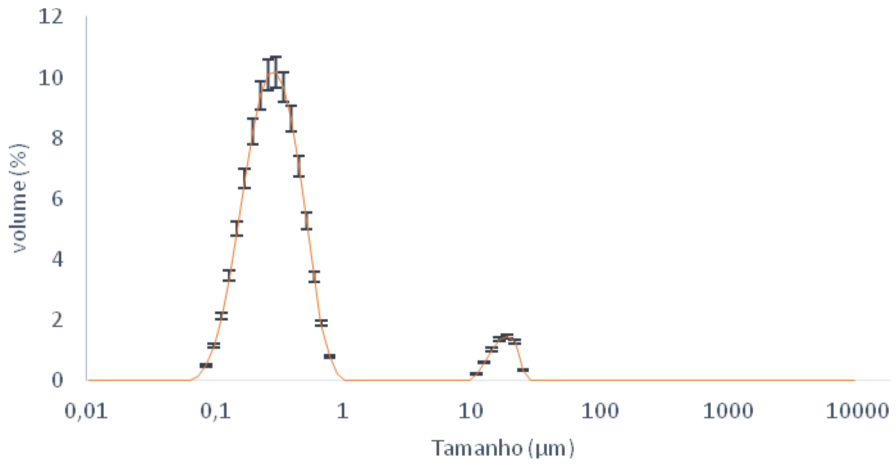
$$SPAN = \frac{(d0.9 - d0.1)}{d0.5} \qquad Eq.\ 1$$

O diâmetro de partícula e o índice de polidispersão dos sistemas particulados (PDI) foram também obtidos através da técnica de espalhamento de luz dinâmico, (DLS), medido a 25ºC no equipamento NanoBrook 90Plus Zeta® (Brookhaven Instruments Corportation, USA).

A determinação de pH foi realizada com potenciômetro (Hanna®) calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0 diretamente nas formulações de nanocápsulas. Todos os resultados das análises foram representados pela média de três determinações ± DP.

3 RESULTADOS DISCUSSÃO

Figura 1. Distribuição da população de partículas na suspensão de NCI.



Fonte: do autor, 2018.

A NCI apresentou um aspecto homogêneo branco opalescente quando analisada macroscopicamente. Na tabela 1 são apresentados os valores das caracterizações de diâmetro e polidispersão das NCI obtidos por DLS. O volume globular médio ($D_{[4.3]}$) da suspensão de nanocápsulas variou de maneira considerável, sendo possível obervar além de uma grande população nanométrica, também algumas partículas de tamanhos maiores (1.301 ± 45,08 nm).

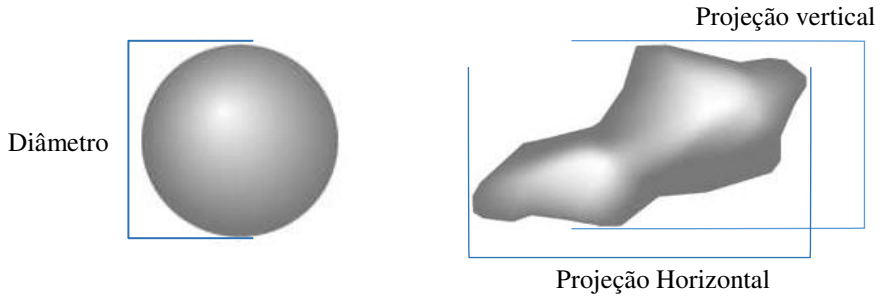
Apesar disso, o diâmetro médio da suspensão ($d_{0.5}$) foi de 289 ± 0,81 nm. Quando analisamos a polidispersão do sistema, observamos índice satisfatório de 1,610 ± 0,05. Estas características descritas são facilmente observadas na figura 1. Esta mostra a granulometria da suspensão com uma distribuição bimodal. A população nanométrica claramente é a mais evidente, porém a presença de partículas maiores não pode ser desconsiderada. Acreditamos que a NCI possa ainda passar por novos ajustes de formulação para que tenhamos somente partículas na faixa nanométrica.

Tabela 1. Valores de diâmetro médio de partículas de partículas e polidispersão (SPAN) obtidos por Difratometria a Laser.

	$D_{[4,3]}$	$d_{(0,5)}$	Span
NCI	1301 ± 45,08	289 ± 0,81	1,610 ± 0,05

Fonte: do autor, 2018.

Figura 2. Diâmetro de partícula obtido por DLS.



A. Diâmetro da partícula ($d_{0.5}$) B. Volume da partícula ($D_{[4.3]}$)

Fonte: Horiba, 2017.

Na figura 2 é representada a diferença entre o $d_{0.5}$ e o $D_{[4.3]}$, onde é possível observar que apesar da suspensão de partículas apresentarem diâmetro nanométrico, estas podem ter formas distintas. Algumas partículas podem ter sua forma esféricas e outras não. Isso costuma ser visualizado pela diferença de valores entre o d0,5 e $D_{[4.3]}$. Este, torna-se geralmente maior na presença de partículas grandes e de formatos diferentes presentes ao longo da distribuição (Figura 2) (HORIBA, 2017).

A determinação do diâmetro de partícula e índice de polidispersão (PDI) por espectroscopia de correlação de fótons (DLS) são apresentadas na tabela 2. Esta técnica avalia a intensidade da luz espalhada por um conjunto de partículas quando em movimento aleatório (movimento Browniano) na suspensão. Desta forma, quanto menor o tamanho das partículas, mais agitado é o movimento aleatório destas. Portanto, a intensidade e o ângulo da luz espalhada são medidos por detectores que convertem, esses sinais em distribuição de tamanho (PAPINI, 2003). A formulação de NCI estava dentro de uma faixa de tamanho nanométrico. Isto corrobora com o valor de diâmetro médio ($d_{0.5}$) previamente avaliado por DL. Além disso o PDI, que possibilita ver o quanto as partículas desviam do valor médio, mostrou um valor 0,109 ± 0,04, comprovando neste caso que a formulação de NCI faria parte de um sistema monodisperso e homogêneo (JAFARI *et al*., 2008).

Tabela 2. Valores de Diâmetro médio de partícula (Zeta Average) e PDI obtido por DLS, além da medida de pH.

	Diâmetro médio (nm)	PDI	pH
NCI	254,5 ± 2,18	0,109 ± 0,04	6,22 ± 0,08

Fonte: do autor, 2018.

O pH da formulação demonstrou valores próximos da neutralidade (6,22 ± 0,08). Esta análise é importante na avaliação da estabilidade química do polímero presente, pois a alteração do pH se relaciona a degradação do mesmo (GOVENDER *et al*., 2000). Um trabalho realizado por Schaffazick *et al*., (2002) observou que durante 3 meses de armazenamento, as nanocápsulas de diclofenaco se tornaram mais acidas, de um pH de 5,63 ± 0,24 a um pH de 3,94 ± 0,03. E segundo Lopes *et al*., (2000) isto está relacionado a relaxação das cadeias poliméricas do polímero, que ocasionam a exposição dos grupos ácidos carboxílicos ocasionando a hidrólise do PCL.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suspensão NCI demonstrou tamanho de partícula e polidispersão satisfatório de ambas análises realizadas (DL e DLS). Assim novas análises da suspensão de NCI serão realizadas, como eficiências de encapsulação, doseamento além da avaliação de sua estabilidade, dessa forma, apresentando uma formulação alternativa para terapia antifúngica.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, ao Programa de Auxílio à Pós-Graduação (PAPG/UNIPAMPA) e ao Programa de Desenvolvimento Acadêmico da UNIPAMPA (PDA 2018) pelo fornecimento das Bolsas de Estudo.

REFERÊNCIAS

ALTHAUS, V. A.; REGGINATO, A.; BOSSETTI, V.; SCHMIDT, J. C. Espécies de Candida sp. em isolados clínicos e suscetibilidade a antifúngicos de uso hospitalar. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.8, n. 1, 2015.

ANDRIOLE, V. T. Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal agents. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 44, p. 151-162, 1999.

BANDEIRA, Y. R. S.V.; SABADIN, C. E. S. Presença de candidíase e fungos do gênero Candida em pacientes submetidos à quimioterapia. **Journal of Oral Investigations**, v. 5, n. 2, p. 33-39, 2017.

CODEVILLA, C. F.; BAZANA, M. T.; DA SILVA C. D. B.; BARIN, J. S.; DE MENEZES, C. R. Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas. **Ciência e Natura,** p. 142 – 151, 2015.

FESSI, H.; DEVISSAGUET, J; PUISIEUX, F. Procédé de préparation dês systémes colloidaux dispersibles d'une substance sous forme de nanocapsules. **European Patent**, 0274961 A1, 1989.

GOVENDER, T.; RILEY, T.; EHTEZAZI, T.; GARNETT, M. C.; STOLNIK, S.; ILLUM, L.; DAVIS, S. S. Defining the drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 199, n. 95, 2000.

HORIBA. A guidebook to particle size analysis. In: Horiba Scientific, 2017. Irvine, CA, USA: HORIBA INSTRUMENTS, 2017. Disponível em: <https://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/eMag/PSA/Guid

book/pdf/PSA_Guidebook.pdf>. Acesso em: 8 set. 2018.
JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 7, p. 1191-1202, 2008.
JAGER, E.; VENTURINI, C. G.; POLETTO, F. S.; COLOMÉ, L. M.; POHLMANN, J. P.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A. M.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 5, p. 130–140, 2009.
LIU, Y.; ZHANG, B.; YAN, B. Enabling Anticancer Therapeutics by Nanoparticle Carriers: The Delivery of Paclitaxel. **International Journal of Molecular Science**, v. 12, p. 4395-4413, 2011.
LOPES, E.C.; POHLMANN, A. R.; BASSANI, V. L.; GUTERRES, S. S. Polymeric colloidal systems containing ethionamide: preparation and physico-chemical characterization. **Pharmazie**, v. 55, p. 527-30, 2000.
PAPINI, C. J. **Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula**. 2003. 130 f. Dissertação (Mestrado em e m Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
PEREIRA, J. A. **Atividade antifúngica do geraniol sobre leveduras multirresistentes do gênero candida e perfil farmacológico e toxicológico em estudos in silico.** 2017. f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraíba, João Pessoa, 2017.
SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; FREITAS, L. L. F.; GUTERRES, S. S. Caracterização e Estudo de Estabilidade de Suspensões de Nanocápsulas e de Nanoesferas Poliméricas Contendo Diclofenaco. **Acta Farmacéutica Bonaerense,** v. 21, p. 99-106, 2002.
SCHERER, K. D. G. **Atividade antifúngica do óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) em agentes causadores de onicomicoses**. 2017. 41f. Projeto de pesquisa apresentado à disciplina de Trabalho de Curso II - Faculdade de Farmácia, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2017
VAGHASIYA, H.; KUMAR, A.; SAWANT, K. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery of terbinafine hydrochloride. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 311-322, 2013.