

LIPOSSOMAS (LCN): PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMULAÇÕES COM POSSÍVEL AÇÃO CENTRAL.

Laisa Lis F. de Sá (Bolsista do Prog. PIBIC/UFPI); Lina Clara Gayoso A. I. Moreno (Mestranda do Prog. PRPPG em Ciências Farmacêuticas/UFPI); Rivelilson Mendes de Freitas (Pesquisador do Campus P. Portella); Hercília M^a L. Rolim Santos (Pesquisadora do Campus Sen. H. Nunes Barros – UFPI)

Introdução: Os psicofármacos representam uma das mais importantes classes de medicamentos presentes na vida diária da população mundial. De acordo com SILVA e CAVALHEIRO (2004), os distúrbios de ansiedade possuem alta incidência e as epilepsias chegam a atingir, segundo a OMS, cerca de 50 milhões de pessoas no mundo. As alternativas terapêuticas existentes são variadas e baseiam-se na fisiopatologia da doença. Os íons Ca^{+2} , por exemplo, são os responsáveis pela ativação de ondas excitatórias no tálamo que pode induzir lesões e doenças neurodegenerativas (KULLMANN e HANNA, (2002); BRUNTON *et al.* 2006). Relaciona-se ainda com manutenção da hiperexcitabilidade, o que influencia em alterações secundárias a epilepsia (PORTO e SIQUEIRA, (2007); WASTERLAIN, *et al.*, 1993). Diante desses conhecimentos, surgiram diversos trabalhos mostrando a viabilidade dos bloqueadores dos canais de cálcio como anticonvulsivantes e neuroprotetores, como é o caso da DDP (diidropiridina) em estudo (GUINSBURG *et al.*, 2002). A DDP trata-se de um fármaco altamente hidrofóbico comercializado hoje como solução alcoólica. O presente trabalho propõe-se a encapsulação da droga em vesículas fosfolipídicas nanométricas, denominadas lipossomas, excelente sistema de liberação controlada de fármacos capazes de incorporar compostos hidrofílicos e hidrofóbicos (BATISTA (2007); PIMENTEL *et al.*, 2007). Essas formulações seriam tentativas de fornecer um medicamento efetivo, em meio aquoso, e com menos intolerância pelos pacientes em uso. Além da produção, o objetivo do trabalho inclui a caracterização físico-química e avaliação da estabilidade a curto e longo prazo, para comprovação ou não da viabilidade da nova formulação para testes pré-clínicos futuros.

Métodos: Os lipossomas foram preparados usando técnica de formação de filme lipídico, descrito por GORTZI *et al.* (2006) usando uma composição de 117,6 mM dos mesmos. Os lipídios corresponderam à fosfatidilcolina (PC), colesterol (CH), e estearilamina (SA), obtidos a partir da Sigma-Aldrich Chemicals Company Ltda. (St. Louis, USA). Foram preparados dois tipos de formulações, uma com lipídeos catiônicos (SA), numa proporção de 7:2:1 (PC, CH e AS), e a outra neutra, constituída somente por PC e CH numa razão de 8:2 (PC, CH). O fármaco foi adicionado às preparações na proporção de 10%. As formulações foram avaliadas quanto a estabilidade acelerada, utilizando ultracentrífuga KUBOTA KB-20000T e aparelho de agitação mecânica do tipo POLYTEST® 20 BIOBLOCK SCIENTIFIC, e estabilidade a longo prazo (durante 30, 60 e 90 dias), onde parâmetros como tamanho de partículas, pH e características macroscópicas foram avaliados. Para o doseamento do fármaco e taxa de encapsulação, primariamente foi realizado varredura em espectro mini Uv - 1240 da marca SHIMADZU CORPORATION, e elaboração da curva de calibração da DDP em estudo.

Resultados e Discussão: A caracterização físico-química dos lipossomas, carregados positivamente e neutros, mostrada na tabela abaixo demonstra que os parâmetros avaliados antes e após

submissão testes de estabilidade acelerada não apresentaram variações consideráveis, sugerindo a estabilidade das formulações preparadas.

Tabela 1: Parâmetros de estabilidade acelerada realizados nas formulações com 24h após preparadas.

		Formulações Recém Preparadas	Após Centrifugação	Após Agitação mecânica
Lipossoma Neutro (117,6mM)	TP (nm)	121,93 ± 0,60	125,47 ± 5,65	172,37 ± 13,65
	PDI	0,297 ± 0,02	0,333 ± 0,05	0,298 ± 0,10
	pH	7,3	7,4	7,3
	PZ (mV)	- 5,32 ± 1,29	-	-
	Aspectos macroscópicos	Sem precipitado	Sem precipitado	Sem precipitado
Lipossoma com carga (117,6mM)	TP (nm)	153,47 ± 1,88	128,37 ± 2,76	109,03 ± 11,72
	PDI	0,313 ± 0,02	0,304 ± 0,01	0,558 ± 0,50
	pH	7,4	8,0	7,4
	PZ (mV)	+ 10,17 ± 1,99	-	-
	Aspectos macroscópicos	Sem precipitado	Sem precipitado	Sem precipitado

Legenda: TP= Tamanho de Partícula; PDI= Índice de Polidispersão; pH= Potencial Hidrogeniônico; PZ = Potencial Zeta.

Os lipossomas que apresentam tamanho de partículas entre 20 a 100 nm são preconizadas para aplicações intravenosas. Os resultados encontrados demonstram que seria necessário manter as formulações por maior tempo na sonda ultrassônica a fim de reduzir o diâmetro dos mesmos. O índice de polidispersão que representa quanto o tamanho de cada partícula desviou-se do tamanho médio demonstra que o lipossoma sem carga possui vesículas mais uniformes. O potencial Zeta, entretanto, cujo valor em módulo representa a força repulsiva entre as partículas, mostra que a formulação catiônica possui alta repulsão diminuindo assim sua tendência à coalescência. O pH das formulações devem ser compatíveis com o pH do meio fisiológico em que entrará em contato, devendo possuir pH entre 7,35 - 7,45, compatível com o pH sanguíneo. A formulação neutra permaneceu nessa faixa mesmo sob as duas condições de estresse. A longo prazo observou-se que as formulações mostraram-se estáveis por um período de 90 dias, onde suas propriedades físico-químicas de pH e características macroscópicas, não tiveram alteração significativamente.

O doseamento e a taxa de encapsulação são testes essenciais para garantir a existência de uma quantidade determinada de fármaco, suficiente para se produzir efeito farmacológico. No lipossoma neutro, o teor do fármaco encontrado apresentou-se muito próximo de 100%, já os lipossomas com carga apresentaram teor menor, apenas 79,17%. A taxa de encapsulação do lipossoma neutro também se apresentou mais próxima do ideal, 100%, tornando-se assim a formulação mais confiável para encapsulação da quantidade terapêutica ideal.

Conclusão: A nanoencapsulação da DDP pode ser uma alternativa viável para manter a concentração, a estabilidade e facilitar a solubilidade do fármaco sem prejuízos de incompatibilidade com pacientes que não podem fazer uso de medicação com contendo álcool. Testes estão sendo realizados em animais para comprovação do grau de eficácia do fármaco encapsulado.

Palavras-chave: Lipossomas, diidropiridinas, neurofármacos.

Apoio: Agradecemos ao programa PIBIC-UFPI pela Bolsa de Iniciação Científica e ao Grupo sistemas de Liberação Controlada e Vacinas – Nanotecnologia Farmacêutica (SLC-NF) do Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asame – LIKA da UFPE em Recife, cujo suporte técnico nos permitiu desenvolver o projeto.

Referencias Bibliográficas:

BATISTA, C. M.; Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas: **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 43, 2, abr./jun., 2007;

BRUNTON, L. L. (editor); LAZO J.S.; PARKER K.L. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Rio de Janeiro: **McGRAW-HILL**, 2006;

GUINSBURG, R., LEGIDO, A., MARGOTTO. P.R.; Síndrome Hipóxico-isquêmica no recém-nascido: neuropatologia, aspectos clínicos e estratégias potenciais para a prevenção. **I Simpósio Internacional de Reanimação Neonatal**, Belo Horizonte/MG. Clinica de Perinatologia. 2, (3), 387-414, 2002;

KULLMANN, D. M.; HANNA, M. G.; Neurological disorders caused by inherited ion-channel mutations. **The Lancet Neurology**: 1(3), 157-66, 2002;

PIMENTEL, L. F., JÁCOME, A. T. J., MOSQUEIRA, V. C. F., MAGALHÃES, N. S. S.; Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 43, 4, out./dez., 2007;

PORTO, L. A.; SIQUEIRA, J. S.; O Papel dos Canais Iônicos nas Epilepsias e Considerações Sobre as Drogas Antiepilépticas – Uma breve revisão. **J Epilepsy Clin Neurophysiol**. 13(4), 169-175, 2007;

SILVA, A. V.; CAVALHEIRO, E. A.; Epilepsia: uma janela para o cérebro. **MultiCiência**. 3, 2004.