

DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS CARREGADAS COM COMPLEXO TOPOTECANO-SULFATO DE DEXTRANA PARA LIBERAÇÃO PROLONGADA

Emmanuelle de Jesus SILVA*, Raquel Ciffarello GUILGER, Stephânia Fleury TAVEIRA, Ricardo Neves MARRETO

Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal de Goiás - Brasil.

*emmanuelle.farmacia@gmail.com

Palavras-chaves: complexo topotecano-sulfato de dextrana, nanopartículas lipídicas, estabilidade, perfil de liberação *in vitro*.

INTRODUÇÃO

Topotecano (TPT) é um derivado hidrossolúvel da camptotecina, clinicamente aprovado para tratamento de segunda linha de câncer ovariano e câncer de pulmão de células pequenas [1]. TPT pertence a classe de inibidores da topoisomerase I, enzima nuclear relacionada a replicação do DNA. Dessa forma, o TPT é um fármaco fase S específico, requerendo perfil de liberação prolongado para atingir máxima eficácia [2], [3], [4]. Adicionalmente, o TPT sofre uma rápida hidrólise pH dependente *in vivo*, quando em pH plasmático. Essa hidrólise reversível resulta na forma carboxilato menos ativa [5]. O grupamento lactona pode ser estabilizado pela incorporação do fármaco em matrizes lipídicas, pois as mesmas proporcionam isolamento da molécula do meio aquoso circundante. Em trabalho prévio, nosso grupo de pesquisa desenvolveu nanopartículas lipídicas carregadas com TPT para melhorar a estabilidade do fármaco e prolongar liberação, entretanto, estes sistemas mostraram controle de liberação aquém do desejado [6]. Nanopartículas lipídicas carregadas com complexo topotecano-sulfato de dextrana (TPT-SD) poderiam ser uma interessante alternativa para prolongar adicionalmente sua liberação. O objetivo deste trabalho foi desenvolver nanopartículas lipídicas contendo TPT ou TPT-SD com máxima carga de fármaco (CF), diâmetro médio (D) e índice de polidispersividade (Pdl) satisfatórios, elevada eficiência de encapsulação (EE) e bom rendimento de processo. As nanopartículas lipídicas foram avaliadas quanto ao seu perfil de liberação e quanto a estabilidade do fármaco incorporado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nanopartículas lipídicas brancas foram produzidas pela técnica de diluição de microemulsão [7]. A matriz teve como constituintes três diferentes lipídeos: ácido

esteárico (AE) ou ácido dodecanóico (AD) ou uma mistura de ambos (1:1). Lecitina de soja e taurodeoxicolato de sódio foram utilizados como tensoativos.

O complexo TPT-SD foi preparado pelo método de co-precipitação [8] a partir da mistura de soluções de sulfato de dextrana e topotecano mantida sob agitação magnética (150 rpm) por 30 minutos. A relação molar de carga (RMC) ótima foi estabelecida via preparo de diferentes misturas nas proporções TPT: SD de 0,5 :1,00; 0,75 : 1,00; 1,00 : 1,00; 1,50 : 1,00 e 2,00 : 1,00. O precipitado foi liofilizado sem adição de crioprotetor e encapsulado usando a matriz lipídica previamente selecionada. Nanopartículas lipídicas contendo complexo TPT-SD foram então caracterizadas quanto ao diâmetro médio, índice de polidispersividade, eficiência de encapsulação (EE), carga de fármaco (CF) relativa à massa lipídica da matriz e rendimento do processo.

Estudos de liberação *in vitro* foram realizados usando células de fluxo estático tipo "Franz" acopladas em equipamento de coleta automatizada. Uma membrana de diálise (peso molecular 10-12 kDa) foi utilizada. Tampão acetato pH 4,5 foi empregado como solução receptora. O experimento foi realizado a 300 rpm, 37 ° C por 24 horas. Avaliação de estabilidade de topotecano livre, complexado e encapsulado em nanopartículas (pH 7,4) foi realizada pela incubação de amostras sob agitação orbital (125 rpm) a 37 °C por 24 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A RMC ótima para a complexação entre o topotecano e o sulfato de dextrana foi de 1:1. Nessa relação observou-se a maior porcentagem de massa de fármaco precipitada a partir da solução.

Em trabalho prévio, SOUZA et al., produziram nanopartículas lipídicas utilizando AE como principal componente da matriz e relataram que o aumento da carga de fármaco na partícula causou resfriamento excessivo da formulação e queda do rendimento do processo. O uso do AD, lipídeo de menor ponto de fusão (PF) pode ampliar o rendimento do processo. No entanto, nanopartículas contendo somente AD não constituíram um sistema nanoparticulado com características satisfatórias. Nanopartículas com características superiores ($D = 136,9 \pm 8,9$ e $PdI = 0,199 \pm 0,026$) foram obtidas a partir da mistura de AE e AD e foram eleitas para a encapsulação do TPT e do complexo SD-TPT.

Após a seleção das nanopartículas compostas pela mistura AD-AE, procedeu-se ao preparo de formulações contendo quantidades crescentes de TPT. A Figura 1 mostra que o aumento na quantidade de TPT de 6% para 8% não reduziu a EE, no entanto, resultou a carga de fármaco na formulação se mostrou equivalente, o que é explicado pela queda do rendimento de processo. Por outro lado, a incorporação de quantidades de TPT livre superiores a 8%, reduziu a EE sem afetar o rendimento. A queda da EE mostra que a nanopartícula atingiu seu limite de carga, pois o material a ser encapsulado passou a se localizar na fração aquosa e não mais na matriz lipídica. Apesar da mistura AE-AD ser em tese mais fluida, pois contém uma fração de lipídeo de menor ponto de fusão, o rendimento do processo com formulação contendo 8% de TPT foi inferior ao relatado por Souza et al. para formulação equivalente preparada somente com AE. Esse fato foi inesperado e pode ser explicado pela maior aderência da formulação contendo AD aos utensílios utilizados na preparação das nanopartículas.

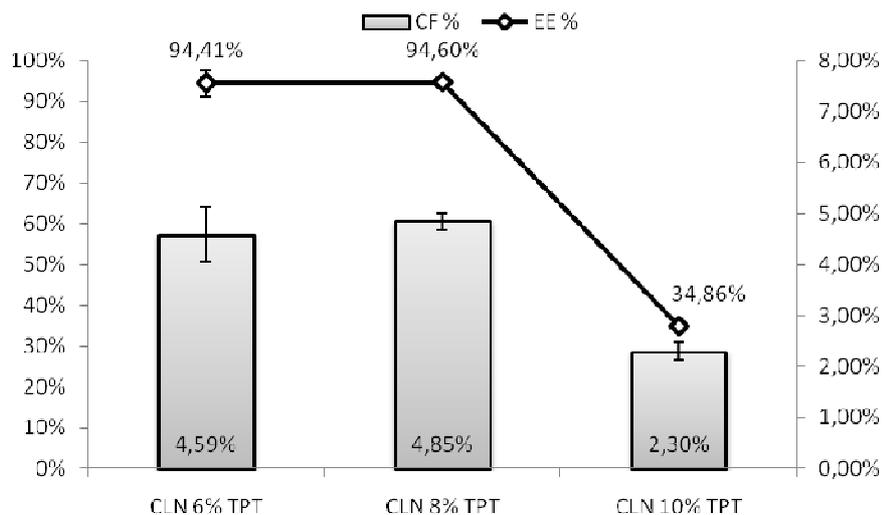


Figura 1 – Eficiência de encapsulação e carga de fármaco em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) em função do aumento na quantidade de topotecano na formulação (TPT).

Devido às características de tamanho e Pdl a incorporação do complexo TPT-SD foi realizada em matriz de AE-AD incorporando 6% de topotecano, que correspondem a um aumento de 8% de complexo TPT-SD. Essas nanopartículas (chamadas de nanopartículas híbridas polímero-lipídeo, NPL) foram produzidas com sucesso e mostraram valores satisfatórios de diâmetro médio ($121,75 \pm 9,26$) e Pdl ($0,277 \pm 0,041$). Os valores de EE das NPL e CLN foram próximos, $94,41\% \pm 3,16$

para CLN e $96,94\% \pm 0,82$ para NPL, bem como a CF $4,59\% \pm 0,48$ para CLN e $5,52\% \pm 1,08$ para NPL.

A análise comparativa dos rendimentos na obtenção das diferentes preparações obtidas no presente trabalho, mostrou que a presença do complexo TPT-SD provavelmente alterou as características física da matriz AD-AE, tornando-a menos aderente e possibilitando a obtenção de rendimento elevado (Figura 2), mesmo quando a massa de complexo adicionada foi de 8%. Essa alteração física pode ser visualizada a olho nu, pela maior miscibilidade do complexo na matriz lipídica, gerando uma preparação mais homogênea e com menores perdas.

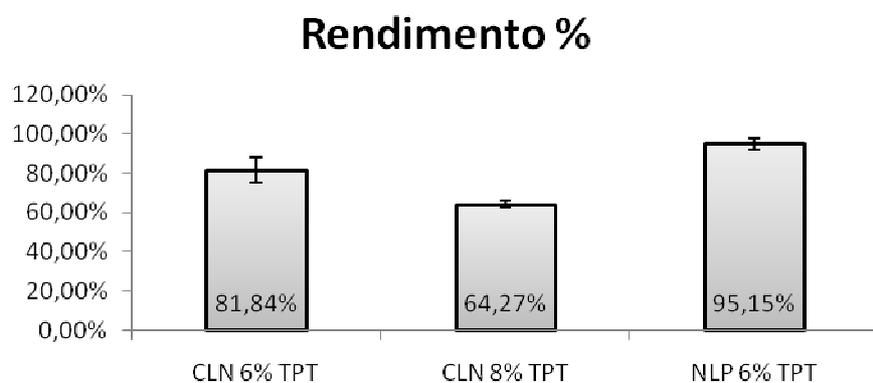


Figura 2 - Rendimento do processo de obtenção de nanopartículas lipídicas contendo TPT ou TPT-SD

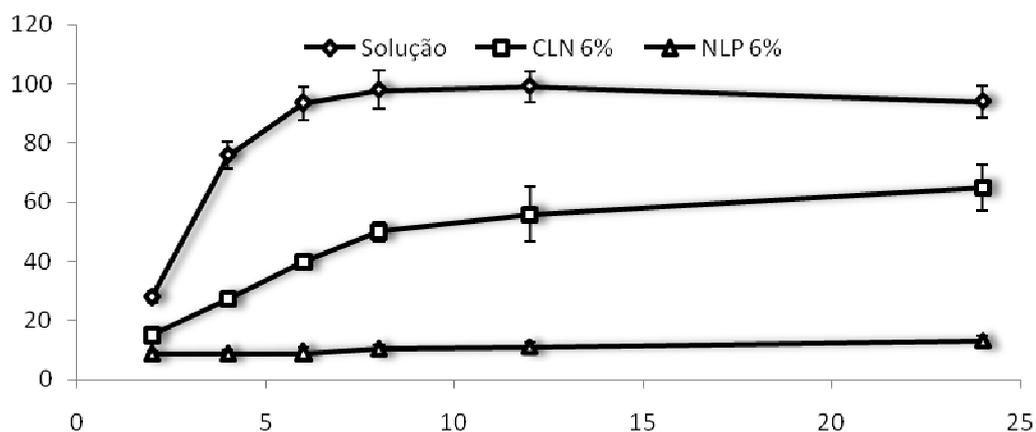


Figura 3 – Perfil de liberação *in vitro* do topotecano (TPT) livre e encapsulado em carreadores lipídicos nanoestruturados e nanopartículas híbridas polímero-lipídeo (NPL).

Os experimentos de liberação *in vitro* (Figura 3) mostraram uma porcentagem muito baixa de TPT liberada a partir das nanopartículas carregadas com TPT-SD ($13,16\% \pm 1,43$) em 24 horas. A liberação de TPT livre das nanopartículas foi

significativamente maior ($64,83\% \pm 7,97$). O maior peso molecular do complexo TPT-SD, bem como a necessidade de ocorrência de trocas iônicas para a liberação do fármaco a partir do complexo polimérico explica o efeito de liberação prolongada alcançado.

Por outro lado, a complexação e encapsulação de TPT-SD em nanopartículas lipídicas não modificou a estabilidade do fármaco quando comparado com nanopartículas carregadas com TPT livre em tampão pH 7,4 a 37°C. Ambas as nanopartículas podem melhorar a estabilidade do TPT quando comparado à estabilidade do fármaco não encapsulado.

CONCLUSÕES

O complexo TPT-SD foi produzido e incorporado em matriz lipídica produzindo, pela primeira vez, nanopartículas híbridas polímero-lipídeo carregadas com topotecano. Estas NPL apresentaram diâmetro médio de 121,75 nm, índice de polidispersividade de 0,277, eficiência de encapsulação de 96,96%, carga de fármaco de 5,52% e perfil de liberação *in vitro* prolongado (13,16% em 24 horas). Assim como os CLN, as NPL podem melhorar a estabilidade do TPT quando comparado ao fármaco não encapsulado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PIZZOLATO, J.F.; SALTZ, L.B. The camptothecins. *The Lancet*, v. 361, p. 2235-2242, 2003.
- [2] GERRITS, C. J. H.; BURRIS, H.; SCHELLENS, J. H. M.; PLANTING, A. S. T.; VAN DEN BURG, M. E. L.; RODRIGEZ, G. I., VAN BEURDEN, V; LOOS, W. J.; HUDSON, I.; FIELDS, S.; VERWEIJ, J.; VON HOFF, D. D. Five days of oral topotecan (Hycamtin®), a phase I and pharmacological study in adult patients with solid tumours. *European Journal of Cancer*, v. 34 (7), p. 1030-1035, 1998.
- [3] GARCIA-CARBONERO, R.; SUPKO, J. G. Current perspectives on the clinical experience, pharmacology, and continued development of the camptothecins. *Clinical Research Cancer*, v. 8, p.641-661, 2002.
- [4] POTMESIL, M. Camptothecins: from bench research to hospital wards. *Cancer Research*, v. 54, p. 1431-1439, 1994.
- [5] BURKE, T. G.; MISHRA, A. K.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Lipid bilayer partitioning and stability of camptothecin drugs. *Biochemistry*, v. 32, p. 5352-5364, 1993.
- [6] SOUZA, L.G.; SILVA, E.J.; MARTINS, A.L.L.; MOTA, M.F.; BRAGA, R.C.; LIMA, E.M.; VALADARES, M.C.; TAVEIRA, S.F.; MARRETO, R.N. Development of topotecan loaded lipid nanoparticles for chemical stabilization and prolonged release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *in press*.
- [7] WONG, H. L.; BENDAYAN, R.; RAUTH, A. M.; WU, X. Y. Development of solid lipid nanoparticles containing ionically complexed chemotherapeutic drugs and chemosensitizers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 93 (8), p. 1993-2007, 2004.
- [8] LI, Y.; TAULIER, N.; RAUTH, A.M.; WU, X. Y. Screening of Lipid Carriers and Characterization of Drug-Polymer-Lipid Interactions for the Rational Design of Polymer-Lipid Hybrid Nanoparticles (PLN). *Pharmaceutical Research*, V. 23, p. 1877-1887, 2006.