

## DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS CONTENDO VORICONAZOL PARA ADMINISTRAÇÃO UNGUEAL.

Bruno dos Santos Souza<sup>1,2\*</sup>, Anna Paula Krawczyk Santos<sup>2</sup>, Priscila Bianca Rodrigues da Rocha Gonçalves<sup>2</sup>, Ricardo Neves Marreto<sup>2</sup>, Stephânia Fleury Taveira<sup>2</sup>.

1. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFG

2. Pesquisador do Laboratório de Nossistemas e dispositivos de liberação modificada de fármacos (NanoSYS) - Faculdade de Farmácia – UFG

### Resumo:

O objetivo desse trabalho foi desenvolver carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) contendo voriconazol (VOR), um antifúngico potente e de amplo espectro de ação, para administração tópica na unha.

Foi realizado um estudo de solubilidade do VOR em lipídeos e tensoativos para seleção dos excipientes a serem utilizados para produção das nanopartículas. Estas, então, foram obtidas através da técnica da diluição da microemulsão e caracterizadas quanto ao tamanho, índice de polidispersão (Pdl), potencial zeta, recuperação do fármaco e eficiência de encapsulação.

Verificou-se que, o VOR apresenta melhor solubilidade em ácido oleico e em solução de polissorbato 80. Os carreadores foram obtidos apresentando tamanho médio de 112 nm, Pdl de 0,237, potencial zeta de -7,35 mV. A recuperação do VOR foi de 90% e eficiência de encapsulação de 64%. Os resultados indicam a obtenção de um sistema nanométrico, monodisperso e bastante promissor para veiculação do VOR.

**Palavras-chave:** Unha; voriconazol; carreadores lipídicos nanoestruturados.

**Apoio financeiro:** CNPq; Capes; FAPEG.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UFG.

### Introdução:

A placa ungueal tem a peculiaridade de ser uma barreira bastante resistente à permeação e penetração de substâncias, principalmente devido as suas características estruturais e por ser composta majoritariamente por queratina. Dessa forma, quando é acometida por alguma patologia, conseqüentemente haverá uma maior dificuldade de tratamento (ELSAYED, 2015). E, dentre as desordens que acometem a unha, as

onicomicoses, infecções fúngicas das unhas, são as mais frequentes (IORIZZO et al, 2007). Elas afetam cerca de 20% da população mundial, e são responsáveis por aproximadamente 50% de todas as doenças ungueais (ELKEEB et al, 2010).

Dentre o arsenal terapêutico envolvido para tratar essas infecções fúngicas, existe um interesse pelo uso do VOR, um antifúngico triazólico de segunda geração que atua na inibição da demetilização do 14 $\alpha$ -lanosterol, uma etapa fundamental da síntese de ergosterol, componente da membrana fúngica (SONG et al, 2014).

Dentro deste contexto, as nanopartículas lipídicas parecem ser uma alternativa viável para liberação tópica de fármacos na unha. Estas partículas já têm sido amplamente utilizadas para aumentar a permeação de fármacos na pele (MARQUELE-OLIVEIRA et al., 2010). A matriz lipídica dessas partículas possui uma estrutura desorganizada, fazendo com que ocorra uma liberação de forma controlada do fármaco (OLBRICH et al., 2001). Além do mais, estes sistemas permitem a encapsulação de fármacos altamente lipofílicos e, ainda, podem ser incorporados em formulações com bases aquosas.

Nesse intuito, o objetivo deste trabalho se manteve em desenvolver carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) contendo VOR, para administração tópica na unha, na tentativa de aumentar a permeação e conseqüentemente seu potencial efeito farmacológico.

### Metodologia:

Foi realizado um estudo de solubilidade do VOR em lipídeos e tensoativos, a fim de se determinar o melhor excipiente para o desenvolvimento das nanopartículas. Para tanto, um excesso de VOR foi adicionado nos lipídeos: ácido oleico, miristato de isopropila, mono e diglicerídeos do ácido cáprico/caprílico (Capmul) e triglicerídeos do ácido cáprico/caprílico. Para a avaliação dos tensoativos, uma solução a 1,0% (p/v) foi

preparada, e o mesmo excesso de fármaco foi adicionado aos seguintes tensoativos: Monooleato de sorbitano 80 e Trioleato de sorbitano 85, Poloxamer 188; Poloxamer 407; Polissorbato 80; Dietileno glicol monoetil éter; Taurodeoxicolato de sódio e Monolaurato de Sorbitano Etoxilado 20.

Para obtenção dos carreadores, foi utilizada a técnica da diluição da microemulsão, patenteada por Gasco e colaboradores (WISSING; KAYSER; MULLER, 2004). Os excipientes selecionados nos estudos de solubilidade foram aquecidos (80°C) até total fusão sob constante agitação. Em seguida, adicionou-se o fármaco (VOR em quantidades crescentes) a mistura. Após solubilizado, 250 µL de água quente (80°) foram adicionados para formar a microemulsão que foi posteriormente gotejada em água gelada (4°C) na proporção de (1:16), sob alta rotação em (13.400 rpm) ultra-turrax® por 10 minutos.

Logo após o preparo, as formulações foram avaliadas quanto ao diâmetro médio da partícula, índice de polidispersão (Pdl), potencial zeta, recuperação do fármaco (REC%) e eficiência de encapsulação (EE%).

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas com o software Graphpad Prism 5.03 (GraphPad Inc., USA). As diferenças estatísticas foram determinadas utilizando teste T de student ou ANOVA seguida pelo teste de Tukey com comparação múltipla, com  $p < 0,05$ , utilizado como nível mínimo de significância.

## Resultados e Discussão:

A Tabela 1 apresenta a solubilidade do VOR em diferentes lipídeos líquidos.

**Tabela 01.** Concentração de VOR solubilizada nos lipídeos líquidos.

Lipídeo	Solubilidade (mg/mL)
Capmul	13,86 ± 0,36
Ácido Oléico	20,39 ± 1,18*
Miristato de Isopropila	5,32 ± 0,72
Miglyol	10,23 ± 1,61

\*Ácido oleico solubiliza o VOR em quantidade significativamente maior que nos demais óleos ( $p < 0,05$ ).

Observa-se na Tabela 1 que o ácido oleico foi o óleo que melhor solubilizou o VOR e por isso foi selecionado para os estudos subsequentes.

A Tabela 2 demonstra a solubilidade do VOR em tensoativos hidrofílicos e lipofílicos.

**Tabela 02.** Concentração de VOR solubilizada em tensoativos.

Tensoativo	Solubilidade (mg/mL)
Monooleato de sorbitano 80	5,832 ± 1,033*
Trioleato de sorbitano 85	5,137 ± 0,021*
Monolaurato de Sorbitano Etoxilado 20	0,404 ± 0,002
Dietileno glicol monoetil éter	0,433 ± 0,007
Poloxamer 188	0,510 ± 0,142
Poloxamer 407	0,414 ± 0,014
Taurodeoxicolato de sódio	0,374 ± 0,007
Polissorbato 80	0,688 ± 0,077#

\*Quantidade de VOR significativamente maior que nos demais tensoativos lipofílicos ( $p < 0,05$ ). #Quantidade de VOR significativamente maior do que nos demais tensoativos hidrofílicos ( $p < 0,05$ ).

Dentre os tensoativos lipofílicos, o VOR solubilizou-se melhor no Monooleato de sorbitano 80 e Trioleato de sorbitano 85 e, este último foi selecionado para obtenção dos CLN. Ainda, dentre os hidrofílicos, o VOR solubilizou-se melhor no polissorbato 80, que também foi utilizado para produção as nanopartículas.

Os CLN foram obtidos com os excipientes selecionados, obtendo sistemas com tamanho nanométrico e monodisperso (106,82 ± 12,13nm e Pdl de 0,293 ± 0,097).

Diferentes quantidades de VOR foram adicionados a estes sistemas. Observou-se que, uma concentração maior que 437 µg/mL de VOR, resultou em baixa eficiência de encapsulação. Assim, os CLN contendo esta quantidade de VOR foram caracterizadas conforme descrito na Tabela 3.

**Tabela 03.** Resultados da caracterização dos CLNs contendo VOR.

Caracterização dos CLN contendo VOR	
Tamanho médio (nm)	112,65 ± 14,92
Índice de Polidispersão (Pdl)	0,237 ± 0,062
Potencial Zeta (mV)	- 7,35 ± 5,70
Recuperação (%)	90,60 ± 3,75
Eficiência de Encapsulação (%)	64,61 ± 1,31

O tamanho médio dos CLN desenvolvidos (Tabela 3) podem favorecer a maior adesão da formulação na placa ungueal, visto que a adesão aumenta com a diminuição do tamanho das partículas. Isto é bastante desejado, visto que a formulação deve permanecer em contato com a unha por muitas horas, para permitir que o fármaco permeie para as camadas mais profundas da placa ungueal. O tamanho reduzido também promove a formação de um filme oclusivo na superfície da unha, o que pode aumentar o contato do fármaco com a placa ungueal, justificando o uso

dessas formulações nas unhas, quando comparado com as formulações convencionais (MÜLLER et al., 2007).

Ainda, a quantidade de fármaco encapsulado e recuperado ao final do preparo das formulações é significativamente maior do que a concentração inibitória mínima (CIM) (concentração mínima requerida de VOR para inibir a ação dos agentes infecciosos). Segundo Carrilo-Munoz et al. (2007), a CIM do VOR para os fungos dermatófitos varia de 0,037 a 0,107 µg/mL e a quantidade de fármaco recuperado ao final do processo de obtenção dos CLN é de 396 µg/mL, aproximadamente 3.700 vezes superior a CIM. Desta forma, esta formulação demonstra-se bastante promissora para aplicação ungueal visando o tratamento tópico das onicomioses. Entretanto, estudos de permeação ungueal do VOR encapsulado nos CLN devem ser realizados no intuito de verificar a capacidade do sistema em aumentar a permeação do VOR para as camadas mais profundas da unha.

### Conclusões:

Foi possível a obtenção dos CLN de tamanho nanométrico e monodispersos. Vale ressaltar que foi possível encapsular uma quantidade considerável de VOR, o que, quando combinado com todos os benefícios das nanopartículas, podem levar a uma alta taxa de permeação do fármaco na placa ungueal, quando comparado com os sistemas convencionais. Além do mais, os estudos de solubilidade do VOR em diferentes excipientes podem auxiliar o desenvolvimento de outras formulações contendo VOR.

Ainda, planeja-se uma continuidade dos estudos com esses sistemas aqui desenvolvidos, como por exemplo, avaliação de liberação do VOR a partir dos carreadores e também um estudo *in vitro* de permeação ungueal.

### Referências bibliográficas

CARRILLO-MUÑOZ, A. J.; GIUSANO, G.; GUARRO, J. et al. In vitro activity of voriconazole against dermatophytes, *Trichophyton brevicululis* and other opportunistic fungi as agents of onychomycosis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 157-161, 2007.

ELKEEB, R. et al. Transungual drug delivery: Current status. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 384, p. 1-8, 2010.

ELSAYED, M. M. A. Development of topical

therapeutics for management of onychomycosis and other nail disorders: A pharmaceutical prospective. **Journal of Controlled Release**, v. 199, p. 132-144, 2015.

IORIZZO, M. PIRACCINI, B. M. TOSTI, A. New fungal nail infections. **Current Opinion in Infectious Diseases**, n. 20, p. 142–145, 2007.

MARQUELE-OLIVERIA, F., et al. Development of nitrosyl ruthenium complex-loaded lipid carriers for topical administration: Improvement in skin stability and in nitric oxide release by visible light irradiation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, p. 843-851, 2010.

MULLER, R.H.; PETERSON, R.D.; PARDEIKE, J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 59, p. 522-530, 2007.

OLBRICH, C., BAKOWSKI, U., LEHR, C. M. Cationic solid-lipid nanoparticles can efficiently bind and transfect plasmid DNA. **Journal of Controlled Release**, n. 77, p. 345–55, 2001.

SONG S. H.; LEE, K. M.; KANG, J. B.; LEE, S. G. et al. Improved skin delivery of voriconazole with a nanostructured lipid carrier-based hydrogel formulation. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 62, n. 8, p. 793-8, 2014.

WISSING, S. A.; KAYSER, O.; MULLER, R. H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 9, p. 1257-72, 2004.