ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE NISTATINA EM SISTEMA DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Carolina Ruppel (BIC/Fundação Araucária), Nara Hellen Campanha Bombarda (Orientador), e-mail: narahell@yahoo.com.br.
Coautores: Josiane Loch Ribeiro (CPF: 01703148983); Paulo Vitor Farago (CPF: 02688357999); Luiz Ricardo Marafigo Zander (CPF: 09360563986).

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia.

Área: Odontologia; subárea: Materiais Odontológicos.

Palavras-chave: Estomatite sob Prótese, Liberação controlada de Fármacos, Nistatina.

Resumo

Visando a liberação controlada do antifúngico nistatina (N) em meio oral para o tratamento da estomatite protética, micropartículas poliméricas (MP) foram produzidas pelo método de *spray dryer* a partir dos polímeros mucoadesivos Gantrez MS-955 (G), Eudragit L-100 (E) e a combinação de ambos (EG) com 10 e 20% do fármaco N. Para a análise de eficiência de encapsulação as formulações EN10, EN20 e EGN20 foram selecionadas. Em um balão volumétrico, MP com 5 mg de N foram solubilizadas em 10 mL de solução de metanol e dimetilformamida (8:2), mantidas sob agitação constante (800 rpm) por 24 h, filtradas em filtro de nylon de 0,45 µm e preparadas amostras nas concentrações de 50 $\mu g.mL^{-1}$ diluindo-as em metanol e água (62:38). A análise foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência em um método previamente desenvolvido e validado. O percentual de eficiência de encapsulação foi calculado pela razão entre a massa de N das MP dividida pela massa teórica estimada multiplicados por 100. O percentual de incorporação variou de 35,8 (EN10) a 66,52% (EN20). A formulação EN20 é uma opção a ser estudada, pois mostrou maior percentual de incorporação.

Introdução

A estomatite protética (EP) é a condição inflamatória encontrada com prevalência de 6,5 a 75% nos pacientes portadores de próteses removíveis parciais ou totais e seu principal fator etiológico é o fungo *Candida albicans* (EMAMI et al., 2012).

A terapia mais utilizada no tratamento da EP é o uso de antifúngicos, sendo a nistatina (N) um dos medicamentos mais prescritos para este fim, pois apresenta alta efetividade na inibição da *Candida*, rara detecção de cepas resistentes e custo acessível quando comparada a outros agentes (GEERTS; STUHLINGER; BASSON, 2008). Clinicamente, fatores como a salivação, o reflexo da deglutição, a fala, a mastigação, e a passagem do bolo alimentar deslocar ou a diluir o fármaco antifúngico aplicado na cavidade oral (MADGULKAR; KADAM; POKHARKAR, 2009) resultando na diminuição da disponibilidade reduzida do agente ativo (CHINNA; CHAITANYA; MADHUSUDAN, 2011).

Além disso, a estabilidade, a retenção e o suporte das próteses removíveis em longo prazo podem ser comprometidos pela perda fisiológica de osso alveolar se

faz necessário, a utilização de adesivos protéticos (AP) para o aumento desses fatores, favorecendo a qualidade de vida dos usuários destes dispositivos. (PIERALINI et al., 2010).

A associação do antifúngico N a um sistema de micropartículas poliméricas (MP) de liberação controlada poderia representar um meio alternativo para aumentar sua disponibilidade no ambiente oral favorecendo a absorção do princípio ativo e aumento do seu efeito local na EP. Além disso, a possibilidade de adição desse sistema a formulações bio-adesivas como AP, favoreceria sua aplicação na área específica da mucosa a ser tratada.

Materiais e Métodos

1. *Produção e seleção das micropartículas*

Micropartículas poliméricas (MP) foram produzidas pelo método de *spray dryer* a partir dos polímeros mucoadesivos Gantrez MS-955 (G), Eudragit L-100 (E) e a combinação de ambos (EG) com 10 e 20% do fármaco N. Foram selecionadas três formulações de MP, EN10 e EN20 que apresentaram os melhores resultados no ensaio de caraterização físico-química termogravimetria e a EGN20 que possui composição semelhante a uma micropartícula que foi considerada viável para o carreamento do antifúngico Nitrato de Miconazol no estudo de Cartagena-Molina (2016).

2. *Avaliação da eficiência de encapsulação (EE)*

Foi desenvolvido e validado um método analítico de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para quantificar o fármaco N puro e contido nas MP.

Para este estudo foi utilizado o equipamento Merck-Hitachi Lachrom (Hitachi High Technologies America, Inc. Tóquio, Japão), com sistema de injeção manual e o software ChromQuest 5.0 usado para coleta de dados e cálculo. A separação foi realizada numa coluna analítica de fase reversa C18 Inertsil® ODS3 (150 mm x 4,6 mm, 5 mm), acoplada a um sistema de pré-coluna Inertsil® ODS3 (10 mm x 4 mm, 5 µm). A eluição foi realizada a temperatura ambiente, em modo isocrático, sendo a fase móvel constituída por metanol e água ultrapura (62:38), previamente desgaseificados e o metanol filtrado em um filtro de membrana de nylon 0,45 µm x 25 mm. A taxa de fluxo foi 1,2 $mL.min^{-1}$, o tempo de análise foi 10,0 min e a detecção ocorreu em 304 nm.

Inicialmente foram preparadas em triplicata quantidades de MP equivalentes a 5 mg de N em cada uma das formulações, que representaram a massa inicial ou massa teórica. Então foram colocados em balões volumétricos, protegidos da luz, devido a fotossensibilidade do fármaco e diluídos em 8 mL de uma solução de metanol e dimetilformamida (8:2 v/v) para solubilização do fármaco, a qual foi utilizada na solubilização do fármaco método de CLAE validado para esta leitura.

As soluções obtidas de cada formulação foram agitadas num agitador magnético (5.000 $rev.min^{-1}$) durante 24 h e submetidas a ultrassom por 30 min. O volume de 10 mL dos balões foi completado com a solução de metanol e dimetilformamida (8:2 v/v). Estas soluções foram filtradas através de um filtro de membrana de nylon 0,45 µm e a partir delas foram preparadas amostras diluídas até a concentração de 50 $\mu g.mL^{-1}$ com a fase móvel do método desenvolvido para a CLAE, neste caso metanol e água destilada (62:38).

A eficiência de encapsulação foi calculada considerando os resultados das leituras das injeções em HPLC das amostras preparadas a partir destas soluções utilizando a Equação 1.

Equação 1- Eficiência de encapsulação (EE%):

$$EE\% = \frac{\text{Massa de N contida nas MP}}{\text{Massa teórica de N}} X100$$

Resultados e Discussão

Os resultados da EE e o teor em mg de nistatina/100 mg de formulação estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Resultados da eficiência de encapsulação (EE) e o teor (mg/100 mg de formulação) obtida a partir das formulações EN10, EN20 e EGN20.

Formulação	EE(%) ± DP*	Teor (DPR** %)
EN10	35,80 ± 1,11	3,58 (3,11)
EN20	66,52 ± 1,01	13,3 (1,53)
EGN20	36,12 ± 0,46	3,61 (1,30)

EE = Média dos resultados obtidos da triplicata de cada formulação Teor = mg de N/100 mg de formulação *DP = Desvio Padrão; **DPR = Desvio Padrão relativo. Fonte: Ribeiro, 2018.

A eficiência de encapsulação de fármacos é dependente do tipo do polímero, de sua concentração e das condições de preparo (MISHRA; MISHRA; YADAV, 2017). As condições de preparo por secagem por pulverização foram as mesmas para todas as formulações e as variações testadas incluíram o tipo do polímero e sua concentração.

A formulação EN20 foi selecionada por apresentar os melhores resultados nas análises de caracterização e obteve a maior eficiência de encapsulação, o que a qualifica como uma promissora forma de sistema de liberação controlada a ser estudada para carrear o fármaco. Entretanto, pode-se considerar baixa a eficiência de encapsulação encontrada para as formulações, uma vez que esta varia normalmente entre 70 e 85%, independentemente dos parâmetros do processo, quando se produzem partículas pela técnica de spray dryer (SILVA et al., 2003). Uma possível explicação para esses resultados é que os polímeros hidrofílicos podem estar retendo o fármaco e não o disponibilizando para quantificação de eficiência de encapsulação. A forma de solubilização utilizada no presente estudo se baseou em estudo anterior (CARTAGENA-MOLINA, 2016) que utilizou estes solventes para fármacos cristalinos e nos fatos de que, segundo os arquivos da Farmacopéia Brasileira (ANVISA, 2010), a nistatina é facilmente solúvel em dimetilformamida e pouco solúvel em metanol e de que os polímeros Eudragit são solúveis em solventes orgânicos e insolúvel em água (BAZZO et al., 2013).

Conclusões

A análise de eficiência de encapsulação (EE) apontou que, dentre as micropartículas analisadas, a formulação EN20 obteve o maior grau de incorporação do fármaco podendo ser considerada viável em estudos futuros para o carreamento do fármaco.

Agradecimentos

A minha orientadora Profª. Drª. Nara Hellen Campanha Bombarda pelo carinho, oportunidade e orientação.
A minha co-orientadora Msª. Josiane Loch Ribeiro pela atenção e orientação
A Universidade Estadual de Ponta Grossa pela oportunidade e estrutura.
Ao Laboratório Lapmed pela disponibilidade de infraestrutura.
A Fundação Araucária pela bolsa e Auxílio Financeiro (16521) concedido para a realização dessa pesquisa.

Referências

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, v.1, ed. 5, Brasília, 2010.

BAZZO G. C. et al. Avaliação do aumento da solubilidade aquosa do praziquantel incorporado em microesferas de poli(3-hidroxibutirato) e Eudragit® E. **Acta Sci**, v. 35, n. 1, p. 91-96, 2013.

CARTAGENA-MOLINA A. F. **Desenvolvimento de um adesivo para próteses removíveis contendo micropartículas poliméricas de nitrato de miconazol: síntese e caracterização.** 118 f. Tese de doutorado – UEPG. Ponta Grossa 2016.

CHINNA, R. P.; CHAITANYA, K. S. C.; MADHUSUDAN R. Y. A review on bioadhesive buccal drug delivery systems: current status of formulation and evaluation methods. **Daru**, v. 19, n. 6, p. 385-403, 2011.

EMAMI, E. et al. The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: a systematic review. **Int J Prosthodont, Lombard**, v. 25, n. 2, p. 113-9, 2012.

GEERTS, G. A.; STUHLINGER, M. E. BASSON, N. J. Effect of na antifungal denture liner on the saliva yeast count in patients with denture stomatitis: a pilot study. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 664-669, 2008.

MADGULKAR, A.; KADAM, S.; POKHARKAR, V. Development of Buccal Adhesive Tablet with Prolonged Antifungal activity: Optimization and ex vivo Deposition Studies. **Indian J Pharm Sci**, v. 71, n. 3, p. 290-4, 2009.

MISHRA B.; MISHRA M.; YADAV S. K. Antibacterial loaded spray dried chitosan polyelectrolyte complexes as dry powder aerosol for the treatment of lung infections. **IJPR**, v. 16, n. 1, p. 74-92, 2017.

PIERALINI, A. R. F. et al. Esclarecendo o uso de fixadores para prótese total. **Rev. ABO Nac**, v. 18, n. 1, p. 112-6, 2010.

Ribeiro, J. L. **Desenvolvimento e caracterização de micropartículas poliméricas contendo nistatina para adesivos protéticos**. 88 f. Ponta Grossa, 2018. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Clínica Integrada). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

SILVA, C. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 39, n. 1, p. 1-20, 2003.