

Sistema de liberação sustentada de Bupivacaína S75:R25 em lipossomas

Bianca Brandão da Silva*, Eneida de Paula, Juliana Damasceno Oliveira

Abstract

Bupivacaine (BVC) is the main local anesthetic used in surgical procedures, however its cardiotoxic and neurotoxic effects restrict its use. Liposomes are versatile drug delivery systems (DDS) composed of one or more phospholipid bilayers. Local anesthetics interact with liposomes, distributing themselves in the lipid bilayer and in the inner aqueous core, prolonging the anesthesia time. The purpose of this study was the development of a liposomal formulation for the 75% excess enantiomeric S(-) form of bupivacaine (BVC_{S75} / Novabupi®). In that way, dynamic light scattering (DLS) and nanotracking analysis (NTA) were used to characterize: nanoparticles size, polydispersity (PDI) and zeta potential (PZ). These parameters remained stable during storage (5 months, at 4 °C). The encapsulation efficiency as well as the *in vitro* release of BVC_{S75} from the liposomes at 37 °C were measured. The time for total release of the anesthetic (2h for free BVC_{S75}) was extended to ca. 46h in the LUVBVC_{S75}. Therefore, we conclude that conventional liposomes can act as an interesting drug-delivery system, promoting the sustained release and decreasing the toxicity of BVC_{S75}.

Keywords: Bupivacaine, Local Anesthetic, Liposome.

Introdução

Bupivacaína (BVC) é um anestésico local do grupo aminoamida potente e de longa duração⁽¹⁾, formado por uma mistura racêmica dos enantiômeros S(-) levobupivacaína e R(+) dextrobupivacaína, o primeiro de menor toxicidade^(2,3). Sistemas de Liberação Sustentada (drug-delivery systems, DDS) podem ser utilizados para reduzir a toxicidade e prolongar o tempo de analgesia⁽⁴⁾. Lipossomas estão entre os mais conhecidos carreadores de DDS, capazes de incorporar uma grande variedade de fármacos anfifílicos, além de serem biologicamente inertes e pouco imunogênicos⁽⁵⁾. O objetivo deste estudo foi desenvolver uma formulação lipossomal com suficiente estabilidade de prateleira, para a bupivacaína em excesso enantiomérico (BVC_{S75} / Novabupi®), com o propósito de aumentar o tempo de analgesia e reduzir a toxicidade sistêmica do anestésico.

lipossomas em suspensão não foi modificado após adição do anestésico (ca. 2×10^{13} LUVs/mL). A polidispersão foi baixa (PDI < 0,25), indicando população monodispersa, parâmetro desejável para formulações farmacêuticas. O potencial zeta apresentou valores negativos, garantindo repulsão entre as partículas e estabilidade da formulação⁽⁷⁾. Um sistema de dois compartimentos (células de Franz) foi utilizado para medir liberação da BVC_{S75} livre e encapsulada, à 37°C. Amostras foram retiradas do compartimento acceptor (200µL), em intervalos padronizados (15, 30, 45, 60, 90 min; a cada hora até 8 h; após 23, 24, 25 e 44, 45, 46 h) e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Observou-se *in vitro* 100% de liberação da BVC_{S75} nas duas primeiras horas do experimento, enquanto a BVC_{S75} encapsulada nas LUV mostrou 75% de liberação após 46 h. A eficiência de encapsulação (%EE) nos lipossomas foi mensurada por CLAE após as amostras serem filtradas-centrifugadas, em 21%.

Resultados e Discussão

Foram preparados lipossomas (15mM) de fosfatidilcolina de ovo/col/α-tocoferol (4:3:0.07, razão molar), hidratados em tampão hepes (30mM, pH 7,4) e extrudados em membrana de policarbonato de 400nm. A BVC_{S75} (16mM) foi incorporada nessas vesículas unilamelares grandes (LUV) de forma ativa. Por espalhamento de luz dinâmico (DLS) acompanhamos por 5 meses (a 4°C) os parâmetros da estabilidade física das partículas: tamanho, polidispersão (PDI) e potencial zeta (PZ) (Tabela 1); por rastreamento de partículas (NTA) medimos a concentração de partículas/mL, assim como o tamanho das LUV.

Tabela 1. Tamanho, PDI, e ZP das LUVs e LUVBVC_{S75} avaliados por DLS por 5 meses à 4°C.

Tempo (dias)	LUV			LUVBvc		
	Tamanho nm	PDI	ZP (mV)	Tamanho nm	PDI	ZP (mV)
0	176.6 ± 1.3	0.01 ± 0.02	-17.9 ± 2.0	231.3 ± 2.5	0.24 ± 0.01	-10.8 ± 0.6
15	176.9 ± 1.5	0.01 ± 0.01	-17.9 ± 1.7	231.3 ± 1.2	0.24 ± 0.01	-10.8 ± 1.9
30	176.4 ± 1.3	0.11 ± 0.01	-18.0 ± 1.3	231.8 ± 1.4	0.24 ± 0.02	-11.6 ± 0.6
60	177.6 ± 1.8	0.11 ± 0.02	-18.3 ± 1.3	234.4 ± 3.4	0.24 ± 0.02	-11.7 ± 0.6
90	178.0 ± 1.2	0.13 ± 0.02	-18.3 ± 1.4	234.5 ± 2.2	0.26 ± 0.01	-11.8 ± 0.4
120	179.4 ± 1.6	0.19 ± 0.02	-18.5 ± 0.4	234.8 ± 0.6	0.26 ± 0.01	-12.1 ± 0.6
150	181.7 ± 2.2	0.19 ± 0.01	-18.5 ± 1.2	234.9 ± 0.9	0.26 ± 0.01	-12.5 ± 0.6

Ambas as técnicas mostraram aumento de diâmetro médio das LUVs com a incorporação da BVC_{S75}, indicando sua intercalação na bicamada lipídica⁽⁶⁾, sem desestabilização da mesma, já que o número de

Conclusões

A formulação lipossomal para BVC_{S75} apresentou estabilidade físico-química nos 5 meses analisados como também uma liberação sustentada. Sendo assim, a formulação LUVBVC_{S75} parece ser bastante promissora para uso na dor pós-operatória, que exige um tempo maior de analgesia. Para avaliar o potencial terapêutico da formulação pretendemos conduzir testes de viabilidade celular (*in vitro*) e de analgesia *in vivo*.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Cristália, Ind.Quím. Farm. Ltda pela doação da Novabupi®. Esta pesquisa foi fomentada pelo CNPq (bolsa Pibic, B.B.S) e FAPESP (# 14/14457-5).

¹Malamed, S. F. Manual de Anestesia Local. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 67, 2013.

²Garcia, J. B. S.; Oliveira, J. R.; Silva, E. P. A.; Privado, M.; Yamashita, A.M.; Issy, A. M. Rev. Bras. Anest. 51, 2001.

³Glaser, C.; Marhofer, P.; Zimpfer, G.; Heinz, M.; Sitzwohl, C.; Kapral, S.; Schindler, I. Anesth Analg. 94:194, 2002.

⁴Gubernator, J. Exp. Op. Drug deliv. 8:565, 2011.

⁵Bozzuto, G. Liposomes as nanomedical devices. International Journal of Nanomedicine, 2015, pp. 975.

⁶da Silva, C.; Fraceto, L.; Franz-Montan, M.; Couto, V.; Casadei, B.; Cereda, C.; de Paula, E. J. Lip. Res., 26, 1, 2016.

⁷Laouini, A.; Jaafar-Maalej, C.; Limayem-Blouza, I.; Sfar, S.; Charcosset C.; Fessi, H. J. Col. Sci. Biotech 1, 147, 2012.