

II WORKSHOP TEMÁTICO

NOVAS FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE ANESTÉSICOS LOCAIS DE AÇÃO PROLONGADA: DO DESENVOLVIMENTO AO TESTE CLÍNICO ODONTOLÓGICO

LIVRO DE RESUMOS

09 e 10 de abril/2010

**Local: Sala da Congregação do Instituto de
Biologia/Unicamp**

Comissão Organizadora

Dra. Eneida de Paula (IB/Unicamp)

Dr. Francisco Carlos Groppo (FOP/Unicamp)

Dr. Leonardo Fernandes Fraceto (Unesp/Sorocaba)

Dra. Maria Cristina Volpato (FOP/Unicamp)

Apoio Técnico

Maribel Correa da Silva

RESUMOS

AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES ANESTÉSICAS DE TETRACAÍNA EM BETA-CICLODEXTRINA E HIDROXIPROPIL BETA-CICLODEXTRINA

Roberta Aline Franco de Lima (1), Marcelo Bispo de Jesus(1), Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia – UNICAMP

Os anestésicos locais são fármacos empregados para alívio da dor aguda ou crônica, pois bloqueiam a condução do estímulo nervoso em membranas neuronais. Dentre eles, está a Tetracaína (TTC) um amino-éster de grande utilidade na prática clínica, empregado em procedimentos que requerem anestesia tópica, como aqueles oftalmológicos que necessitam de intervenções na córnea.

Sistemas de liberação modificada de fármacos, que empregam carreadores como ciclodextrinas, constituem uma alternativa para aumentar o tempo de ação anestésica e diminuir a toxicidade. As ciclodextrinas são capazes de formar complexos de inclusão com diversos fármacos, alterando propriedades como a solubilidade aquosa, o que torna esses oligosacarídeos cíclicos promissores para este tipo de aplicação. Neste trabalho, estudamos a complexação da TTC com beta-ciclodextrina (β -CD) e hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP- β -CD) em pH fisiológico e sua influência na toxicidade celular e efeito antinociceptivo, induzidos por aquele anestésico, objetivando a preparação de novas formas farmacêuticas.

Para caracterização dos complexos de inclusão TTC: β -CD e TTC:HP- β -CD foram empregados métodos espectroscópicos (Ressonância Magnética Nuclear, fluorescência, absorção UV/VIS), difração de raios-X e calorimetria diferencial de varredura. Ensaio *in vitro*, permitiram avaliar a viabilidade celular da TTC em solução e após a complexação com β -CD e HP- β -CD. Testes de atividade biológica, de bloqueio do nervo infraorbital em ratos, permitiram avaliar o efeito da complexação de TTC com ciclodextrinas no tempo de duração da anestesia.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a formação de complexos de inclusão com forte interação entre TTC e β -CD e HP- β -CD; indicam ainda que a utilização destes complexos de inclusão é promissora como forma farmacêutica alternativa para este anestésico, devido ao aumento da duração da anestesia (pois os complexos apresentaram maior eficácia quando comparados à TTC livre nas mesmas doses), ou ainda a diminuição da toxicidade (atingindo a mesma eficácia da TTC livre, com menores concentrações de TTC complexada).

COMPLEXOS DE ANESTÉSICOS LOCAIS EM CICLODEXTRINAS ENCAPSULADOS EM LIPOSSOMAS

Ana Laís Nascimento Vieira (1), Viviane Roberta Vieira (1), Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

Anestésicos locais (AL) representam uma classe de fármacos utilizados para o tratamento, alívio ou eliminação da dor crônica ou aguda. Compreendem moléculas anfífilas capazes de bloquear a excitação-condução de sinais em nervos periféricos, com duração de ação relativamente curta e toxicidade para o sistema nervoso e cardiovascular. Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com a finalidade de prolongar sua duração de ação e reduzir sua toxicidade sistêmica, através do uso de diferentes carreadores, como lipossomas e ciclodextrinas. Essas novas formulações possibilitam a liberação controlada do fármaco no local de ação (prolongando o efeito anestésico) e evitam os picos de concentração plasmática das drogas (reduzindo a toxicidade). As ciclodextrinas naturais são produtos cíclicos da hidrólise enzimática do amido por alguns microorganismos, formando estruturas com seis, sete ou oito unidades de glicose. Possuem um exterior hidrofílico, enquanto a cavidade interna é relativamente hidrofóbica o que, por sua vez, permite que elas se complexem com moléculas pouco solúveis em água, alterando as propriedades físico-químicas destas (solubilidade aquosa, estabilidade e biodisponibilidade). Já os lipossomas consistem de esferas microscópicas com uma ou mais bicamadas lipídicas onde as caudas hidrofóbicas dos lipídios estão voltadas para o interior da bicamada (onde se inserem fármacos lipofílicos) e as cabeças polares para o exterior da mesma, em contato com a fase aquosa (onde se dissolvem fármacos hidrofílicos). Essas vesículas disponibilizam apenas uma fração do fármaco no local da ação, prolongando a ação e evitando a toxicidade sistêmica. Neste sentido, este trabalho tem por objetivo preparar e caracterizar (a complexação com β -ciclodextrinas e encapsulação em lipossomas) novas formulações anestésicas de liberação controlada, comparando-as com os fármacos disponíveis no mercado quanto a estabilidade e liberação sustentada do anestésico. Os AL de escolha foram as amino-amidas cíclicas: Bupivacaína (BVC) e Ropivacaína (RVC) que serão complexadas com β -ciclodextrinas e posteriormente, encapsuladas em lipossomas de fosfatidilcolina de ovo e colesterol (4:3 mol%), a fim melhorar as propriedades farmacológicas dos AL, objetivando sua futura aplicação clínica.

Agradecimentos: Fapesp (Proc. 06/00121-9) Cristália Ind. Quim. Farm. Ltda, Medley S/A Indústria Farmacêutica.

FORMULAÇÕES LIPOSSOMAIS PARA OXIBUPROCAINA E PROPARACAÍNA: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO

Scarelli, C.(1), Queiróz, V.A(1), Guerreiro, T.M.(1), Cereda, C.M.S. (1), de Paula, E.(1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP,
Brasil. E-mail: camillascarelli@gmal.com

A oxibuprocaina (OBC) e a proparacaína (PPC) são anestésicos locais (AL) de curta duração, usados para diagnósticos e procedimentos cirúrgicos em oftalmologia. Como outros anestésicos da família dos amino-ésteres, são bastante potentes (dose clínica = 0,4% e 0,5%, respectivamente), mas possuem clearance rápido, por degradação por colinesterases plasmáticas [Covino & Vassalo, Anestésicos locais: mecanismos de ação e uso clínico, 1985]. Lipossomas são sistemas carreadores usados para liberação sustentada de fármacos, que têm sido empregados para aumentar o efeito anestésico e/ou reduzir a toxicidade dos mesmos [Araújo *et al*, Can. J. Anesth., 51:566, 2004]. Nesse estudo foram preparados lipossomas de fosfatidilcolina de ovo, colesterol e α -tocoferol (4:3:0,07 mol%). Os valores do coeficiente de partição (P= 9,1 e 32,8, em pH 7,4, para OBC e PPC, respectivamente) obtidos em lipossomas multilamelares, revelaram a baixa hidrofobicidade de ambos anestésicos, em comparação com outros já estudados [de Paula & Schreier, S., Biochim. Biophys. Acta 1240:25, 1995]. Medidas de anisotropia de fluorescência mostraram que ambos os AL inserem-se na bicamada lipídica do lipossoma. Experimentos de cinética de liberação (diálise de equilíbrio) dos AL na presença e na ausência de lipossomas extrudados (400nm) em pH 7,4 revelaram liberação sustentada da OBC e PPC lipossomal. Testes em eritrócitos indicaram que a encapsulação em lipossomas diminui o efeito lítico dos anestésicos, pois a concentração para 50% de hemólise em condições isotônicas aumentou de 4,8 mM para 7,5mM para OBC (de 67,6mM para 70,1mM para PPC). Ainda, em testes de toxicidade, o sistema lipossomal aumentou a viabilidade de células fibroblásticas 3T3 expostas à ação de ambos anestésicos locais. As formulações mostraram-se estáveis por 90 dias de armazenamento a 4°C, sem aumento significativo nos níveis de peróxidos (< 0,5 nM) ou no tamanho médio das partículas. Ensaio de nocicepção, realizados pelo teste de *Tail-Flick* em ratos Wistar revelaram que a encapsulação em lipossomas aumenta o tempo de anestesia da OBC. Em conjunto, esses resultados indicam que as formulações lipossomais podem ser uma alternativa viável para aumentar a biodisponibilidade e ação anestésica destes AL.

Suporte financeiro: FAPESP (Proc. 06/00121-9 e 2009/1566-2)

**EFEITO ANALGÉSICO DA ASSOCIAÇÃO DO SUFENTANIL AO
COMPLEXO BUPIVACAÍNA HIDROXIPROPIL-BETA-CICLODEXTRINA
EM RATOS**

Viviane A. Queiroz (1), Daniele R. de Araújo (2), Cíntia M. S. Cereda (1), Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas - UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil

(2) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC - UFABC, Santo André, São Paulo, Brasil

Os opióides estão entre os fármacos mais utilizados na prática médica e constituem o cerne do manuseio da dor aguda e crônica, secundária a diversas patologias. O sufentanil é um opióide sintético do grupo das fenilpiperidinas e seu efeito analgésico se deve à sua ação nos receptores *mu*. A associação de opióides a anestésicos locais (AL) resulta em melhora expressiva da analgesia. A infusão de soluções do AL bupivacaína (BVC) com opióides combina a analgesia mais rápida e bloqueio mais eficaz da BVC com a analgesia mais prolongada dos opióides. Contudo, apesar de apresentar uma grande vantagem no que diz respeito à potência, a BVC apresenta uma acentuada toxicidade para o sistema nervoso central e sistema cardiovascular. Assim, no intuito de diminuir os efeitos adversos dos AL, justifica-se o desenvolvimento de formas farmacêuticas de AL que aliem aumento do efeito terapêutico com diminuição de toxicidade. Ciclodextrinas usadas como sistema de liberação de fármacos tem se mostrado capazes de manter o ativo em maior concentração no sítio de ação. Em trabalhos anteriores de nosso laboratório foi demonstrada a formação de complexos de inclusão estáveis entre o anestésico local BVC e a beta-ciclodextrina (β -CD) ou seu derivado: hidroxipropil-beta-CD (HP- β -CD). Neste trabalho está sendo avaliada a eficácia anestésica da BVC (na forma de complexo BVC:HP- β -CD) em associação com sufentanil em ratos da linhagem Wistar, através do teste de pressão na pata, objetivando futura aplicação clínica.

Agradecimentos: CNPq e FAPESP (Proc. 06/00121-9).

EFEITO DE ANESTÉSICOS LOCAIS NA FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO DE DRM DE ERITRÓCITOS

*Leonardo de Souza (1), Bruna R. Casadei (1), Cleyton C. Domingues (1) Eneida de
Paula (1)*

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia / Unicamp

Eritrócitos são bons modelos para o estudo de domínios lipídios, pois permitem o isolamento de grandes quantidades de sua membrana plasmática. As propriedades destes domínios na membrana e seu papel fisiológico têm sido estudadas através de DRMs (*Detergent Resistant Membranes*), frações obtidas com uso de detergentes sob gradiente de sacarose (Domingues et al., *J. Membr. Biol.* 227:39-48, 2009). Anestésicos locais interagem com a fase lipídica e proteica de biomembranas, e ambas interações parecem estar associadas ao seu mecanismo de ação (de Paula & Schreier, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29:8771996). Recentemente, Kamata e col. (*Am. J. Hematol.* 83:371, 2008) descreveram o efeito do anestésico local da lidocaína em desorganizar DRMs de eritrócitos, resultando em falhas na transdução de sinal mediada pela proteína Gs-alpha. Nesse trabalho avaliamos o efeito de ALs na formação e composição lipídica e protéica desses domínios. Foram conduzidas medidas quantitativas (concentração de colesterol e proteínas totais) e qualitativas (eletroforese de proteínas) nas frações de DRM. Nosso objetivo foi o de obter informações sobre a interação dos AL com componentes de biomembranas, procurando relacioná-los ao mecanismo de anestesia. No entanto, diferentemente do relato da literatura citado, não encontramos alteração significativa na composição lipídica e proteica total dos DRMs de eritrócitos preparados com Triton X-100, após adição de lidocaína, prilocaína, procaína, bupivacaína, tetracaína ou dibucaína, a não ser pela diminuição no conteúdo de colesterol dos DRMs, após adição de 80mM de lidocaína.

Suporte financeiro: FAPESP (Proc. 09/00904-1, 06/00121-9 e 08/10150-1) e CNPq

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE NOVAS FORMULAÇÕES ANESTÉSICAS PARA BUTAMBEN E PRAMOXINA

Eneida de Paula(1), Livia Sanches e Pinheiro (1), Cíntia Matsumoto (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia / Unicamp

O desenvolvimento de formulações de liberação sustentada para anestésicos locais (AL) objetiva aumentar a solubilidade aquosa ou em membranas desses compostos, melhorar sua estabilidade química, diminuir ou retardar seu clearance plasmático, aumentar a potência anestésica, diminuir a dose efetiva, diminuir a toxicidade local e sistêmica ou apresentar uma alternativa ao uso associado de vasoconstritores em odontologia. Dentre os projetos em fase inicial no laboratório de Biomembranas, voltados ao desenvolvimento de novas formulações anestésicas de liberação sustentada destacamos aqueles envolvendo 2 AL ainda não estudados em nosso laboratório: butamben e pramoxina, o primeiro a ser complexado com hidroxipropil-beta-ciclodextrina (Livia Sanches e Pinheiro) e o segundo encapsulado em lipossomas (Cíntia Matsumoto). Ambos AL são de uso tópico; o butamben ou n-butil-p-aminobenzoato é um análogo da benzocaína (éster), enquanto a pramoxina ou 4-n-butoxifenil morfolinopropil éter (amino-éter) tem estrutura bastante distinta dos AL estudados em nosso laboratório (Figura 1). Uma vez caracterizadas estas novas formulações, as que se mostrarem mais promissoras depois de testadas em ensaios *in vitro* e *in vivo* poderão vir a ser usadas em formulações de uso tópico, em pele ou mucosa. Suporte financeiro: FAPESP (Proc. 06/00121-9) e Faepex/UNICAMP.



Figura 1 – Estrutura química do Butamben (esquerda) e da pramoxina (direita).

AVALIAÇÃO DA MIOTOXICIDADE LOCAL DE FORMULAÇÕES DE ANESTÉSICOS LOCAIS COMPLEXADOS COM CICLODEXTRINA

Cíntia M. S. Cereda (1), Giovana R. Tófoli (1,2), Lázaro A. S. Nunes (1), Daniele R. de Araujo (1,3), Sarah Arana (4) e Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

(2) Unidade de Farmacologia Clínica e Gastroenterologia (UNIFAG), Universidade São Francisco, Bragança Paulista, SP, Brasil.

(3) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC (UFABC), Santo André, SP, Brasil.

(4) Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

Bupivacaína (BVC) e Ropivacaína (RVC) são anestésicos locais (AL) amplamente utilizados em procedimentos cirúrgicos. Novas formulações com AL que utilizam diferentes tipos de carreadores como as ciclodextrinas, têm apresentado resultados promissores, pois mantêm o fármaco mais tempo no local de ação. Em estudos anteriores, a inclusão de BVC e RVC em hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) aumentou o efeito anestésico em comparação aos fármacos em solução [Araujo et al., 2005. Rev. Bras. Anestesiol. 55:316; Araujo et al., 2008. Eur. J. Pharm. Sci. 33:60]. A avaliação da miotoxicidade é de fundamental importância para a aplicação futura dessas novas formulações farmacêuticas como os complexos de inclusão entre BVC ou RVC e HP- β -CD ($BVC_{HP-\beta-CD}$ e $RVC_{HP-\beta-CD}$), pois o dano muscular pode ser considerado uma potencial complicação da anestesia loco-regional. Assim, este estudo avaliou a miotoxicidade local das formulações de BVC e RVC complexadas em ciclodextrinas comparando-as com aquelas utilizadas clinicamente. A avaliação dos níveis séricos da enzima *creatina quinase* (CK) e a análise histopatológica do músculo *gastrocnêmico* foram realizadas em ratos Wistar, após a administração intramuscular das formulações testadas. Para a avaliação da CK, após 2 horas da administração das formulações, os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com uretano e α -cloralose nas dosagens de $1g.kg^{-1}$ e $50mg.kg^{-1}$, respectivamente. Em seguida, amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca e centrifugadas a $1500 \times g$ por 10 min. O soro obtido foi analisado por espectrofotometria em 340nm, com o uso de kit disponível comercialmente (CK-NAC, Wiener lab., Rosário, Argentina). Na análise histopatológica, após a fixação em formol salina 10% (48hs), as amostras foram desidratadas e incluídas em parafina. Cortes transversais ($5\mu m$) foram obtidos em cinco profundidades distintas, corados com hematoxilina-eosina e analisados em microscopia de luz com a observação de presença de destruição de fibras e mionecrose. Na avaliação da CK, os resultados obtidos mostraram que as formulações complexadas apresentaram um aumento significativamente menor dos níveis séricos de CK em comparação com as formulações livres ($p < 0,05$ na comparação entre BVC e $BVC_{HP-\beta-CD}$, $p < 0,01$ entre RVC e $RVC_{HP-\beta-CD}$). Na avaliação histopatológica, as formulações livres levaram a uma maior destruição de fibras quando comparadas às formulações complexadas, e também se observou que as formulações de BVC se mostraram mais miotóxicas que as formulações de RVC. Em conclusão, pôde-se observar que as formulações anestésicas de BVC e RVC em complexos de inclusão com HP- β -CD se mostraram menos miotóxicas que as formulações livres. Agradecimentos: FAPESP (proc. 06/00121-9 e 07/55189-0).

LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE ANESTÉSICOS LOCAIS ATRAVÉS DA PELE

*Sheila M. Stoco (1), Michelle Franz-Montan (1), Giovana R. Tófoli (1,2), Cíntia Maria
S. Cereda (1), Eneida de Paula (1) Daniele R. de Araújo (1,3),*

*(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(2) Unidade Integrada de Farmacologia e Gastroenterologia – UNIFAG,
Universidade São Francisco-USF, Bragança Paulista, SP, Brasil*

*(3) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC -
UFABC, Santo André, SP, Brasil*

Durante muito tempo, acreditou-se que a função primordial da pele era comportar-se como barreira a agentes químicos, físicos e microbiológicos. Hoje, entretanto, esta concepção mudou e observa-se que a pele representa uma das mais importantes vias para a administração de fármacos. As principais vantagens da administração tópica e transdérmica se referem ao fato de: *i)* não serem invasivas, *ii)* serem convenientes para o acesso de fármacos ao organismo (tanto local quanto sistêmico); *iii)* serem relativamente imóveis, mas com vascularização adequada; *iv)* evitarem a biotransformação de primeira passagem e, finalmente, *v)* possibilitarem a utilização de formas farmacêuticas auto-administráveis, o que facilita a adesão ao tratamento quando se necessita de administrações repetidas. Os anestésicos locais, apresentam grande aplicação clínica em Medicina e Odontologia, sendo utilizados em bloqueios regionais, na indução de analgesia operatória e/ou pós-operatória, no tratamento da dor aguda e crônica. No entanto, um dos inconvenientes mais relatados pelos pacientes é o efeito analgésico inadequado no local da injeção e/ou dos procedimentos cirúrgicos. Dessa forma, para contornar esses problemas são utilizados anestésicos tópicos no local específico do procedimento. Embora as sensações associadas à penetração da agulha não sejam completamente eliminadas, a administração tópica de um anestésico local reduz a dor e a ansiedade associados a tais procedimentos invasivos. Assim, algumas estratégias têm sido utilizadas com o objetivo de aumentar tanto a velocidade de permeação quanto a concentração de fármaco no local de ação, potencializando o efeito anestésico. Entre elas pode-se citar: o uso de promotores de absorção químicos e físicos, os sistemas para liberação controlada utilizando lipossomas elásticos, nanopartículas, microemulsões e os bioadesivos constituídos à base de polímeros sensíveis à temperatura ou à pressão. Agradecimentos: Fapesp, Oxiteno.

LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICA DE ROPIVACAÍNA EM GEL: EFEITO DOS PROMOTORES DE ABSORÇÃO NA PERMEABILIDADE E CITOTOXICIDADE

Sheila Maria Stoco (1), Eneida de Paula (1), Daniele R. de Araújo (1,2)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

(2) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC - UFABC, Santo André, SP, Brasil

A anestesia tópica é amplamente utilizada em procedimentos dermatológicos cirúrgicos para diminuir a dor local e o desconforto durante a inserção da agulha. No entanto, para se obter o efeito anestésico tópico adequado é preciso minimizar a barreira de resistência oferecida pela pele sendo uma das estratégias, a utilização de promotores de absorção. Dessa forma, propõe-se a utilização de géis contendo ropivacaína para anestesia tópica, uma vez que esse fármaco além de induzir menor toxicidade ao sistema nervoso central e cardiovascular, não apresenta inconvenientes quanto aos efeitos adversos como metemoglobinemia e potencial alergênico causados pela benzocaína e a lidocaína, anestésicos locais mais frequentemente utilizados por via tópica. As formulações apresentadas mostram a associação de diferentes promotores de absorção (PEG 400/600[®] isolados ou em associação com tensoativos como o Span20[®]) com o objetivo de promover um rápido início de ação e um período anestésico mais prolongado. Os ensaios de permeação *in vitro* em membranas artificiais foram realizados utilizando-se um modelo bicompartimental (células de Franz). Os dados de cinética de permeação mostraram que dentre as seis formulações estudadas, duas merecem destaque: a primeira formulação contendo 30% PEG 400[®] e apresentou o melhor perfil de permeação devido ao alto valor de fluxo (861,6 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) e maior coeficiente de permeabilidade (0,78 $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$) em relação às demais formulações. A segunda formulação contendo 30% PEG 600[®], apesar de promover um fluxo de permeação inferior à formulação anterior (510,5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) e dispor de um coeficiente de permeabilidade também inferior (0,42 $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$), esta formulação apresentou o menor tempo necessário para o início da permeação (time lag=0,25h). Os estudos de citotoxicidade em culturas de fibroblastos (3T3) mostraram que formulações contendo associações de 15% PEG 400[®], 15% PEG 600[®] e 0,5%Span20[®] reduziram significativamente ($p<0.001$) a viabilidade celular enquanto as formulações contendo 30%PEG 400[®] ou 30%PEG 600[®], isoladamente, não induziram efeitos citotóxicos. Agradecimentos: Fapesp, Oxiteno.

ESTUDOS DE PERMEAÇÃO CUTÂNEA E BIOCAMPATIBILIDADE DE FORMULAÇÕES DE BENZOCAÍNA EM GÉIS LIPOSSOMAIS

*Michelle Franz-Montan (1), Cíntia Maria Cereda (1), Daniele Ribeiro de Araújo (2),
Eneida de Paula (1)*

*(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(2) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC -
UFABC, Santo André, SP, Brasil*

Anestésicos tópicos são essenciais para controle de dor e desconforto em procedimentos clínicos e diagnósticos. Nosso grupo de pesquisa demonstrou a eficácia de formulações em gel de ropivacaína e de benzocaína encapsuladas em lipossomas na anestesia tópica da mucosa oral, na redução da dor pré-anestesia infiltrativa (Franz-Montan et al, 2007a,b). Para melhor avaliar o potencial de uso tópico destas formulações objetivamos, neste projeto, analisar *in vitro* e *in vivo* a capacidade de permeação em membrana artificial (poros de 30 nm) e pele de orelha de porco de formulações de benzocaína (10%) encapsulada em lipossomas convencionais e elásticos, além de sua toxicidade, avaliada em testes de cultura de células e análise histológica (intensidade da infiltração leucocitária e/ou a presença de qualquer área de necrose) após aplicação tópica em pele de ratos. Os lipossomas elásticos foram preparados aos moldes dos convencionais, com a adição do tensoativo PEG-8-L, o que torna a vesícula elástica. Este projeto está em fase de execução e até o momento já foi finalizado o teste de permeação com membrana artificial em célula de difusão vertical do tipo Franz. Os seguintes géis estão sendo testados: benzocaína a 10% (F1); benzocaína a 10% encapsulada em lipossomas convencionais (F2); benzocaína a 20% (formulação comercial-F3); benzocaína a 10% encapsulada em lipossomas elásticos (F4); placebo (F5); placebo de lipossomas convencionais (F6) e placebo de lipossomas elásticos (F7). O teste de permeação com membrana artificial foi realizado em quadruplicatas. As amostras foram coletadas a cada hora de experimento durante 8 horas. A quantificação de benzocaína permeada foi feita através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Não houve diferenças estatísticas ($p > 0,05$) na quantidade de benzocaína permeada entre as formulações anestésicas em cada período avaliado.

Agradecimento: Fapesp.

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTUDO DA PERMEAÇÃO DE
FORMULAÇÕES LIPOSSOMAIS E NÃO LIPOSSOMAIS DE BENZOCAÍNA
EM GEL**

*Viviane Roberta Vieira Sobral (1) Michelle Franz-Montan (1), Ana Lais Nascimento
Vieira (1), Daniele Ribeiro de Araújo (2), Eneida de Paula (1)*

*(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(2) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC -
UFABC, Santo André, SP, Brasil*

Benzocaína é um anestésico do tipo éster usado principalmente em formulações para uso tópico em pele e mucosa. Em estudo anterior realizado em nosso laboratório, foi feita a caracterização da interação da Benzocaína com lipossomas multilamelares compostos de fosfatidilcolina de ovo (EPC), colesterol e alfa-tocoferol (4:3:0,07 mol%). Estudos recentes conduzidos no laboratório têm avaliado a capacidade de permeação e toxicidade de formulações em gel de benzocaína encapsulada em lipossomas convencionais e elásticos (preparados na presença do tensoativo PEG-8-L). O objetivo deste trabalho é avaliar, sob o aspecto físico-químico, essas formulações em gel de benzocaína encapsulada em lipossomas (convencionais e elásticos) e gel não lipossomal. Serão realizados estudos de estabilidade acelerada, segundo a RE nº1 de 29/07/2005 – Guia para a realização de estudos estabilidade/ANVISA. A quantificação do teor de benzocaína nas formulações será feita por cromatografia líquida e o método validado segundo a RE 899 de 29/05/2003 – Guia de Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos/ANVISA. Aspectos como peroxidação lipídica, pH, comportamento reológico e teor serão avaliados ao longo do estudo. As formulações serão avaliadas também com relação a sua permeação através da pele. Os testes serão realizados em células de Franz, com membrana artificial e, posteriormente, em preparados de derme da orelha de suínos, comparando-se a permeação da BZC das formulações lipossomais frente a uma formulação não lipossomal contendo promotor de absorção.

Agradecimentos: FAPESP (Proc. 06/00121-9)

**DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA ARTICAÍNA LIVRE E
ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS COM USO DE ESPECTROMETRIA DE
RAIOS-X**

Tatiane Melina Guerreiro (1), Juliana Terra (2), Giovana Radomille Tófoli (1), Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

(2) Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

Novas formas farmacêuticas de anestésicos locais encapsulados em lipossomas têm sido desenvolvidas em nosso laboratório, com benefícios como aumento da duração da anestesia e diminuição da toxicidade. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é estudar a farmacocinética de formulações lipossomais de articaína (3 e 4%) comparando-as com o anestésico livre nas mesmas concentrações e com as formulações comerciais de articaína (4% com adrenalina 1:100.000 e 4% com adrenalina 1:200.000) através de medidas de espectrometria de raios-X. Para as quantificações estão sendo empregados métodos de análise multivariada, adequados para estudos de amostras complexas como os fluidos biológicos em que há interferências severas nos sinais analíticos das espécies estudadas, pela existência de muitos compostos simultaneamente na amostra. A espectroscopia de raios-X aliada à análise multivariada possibilitará a quantificação do anestésico de maneira rápida, sem que haja preparação prévia das amostras, sem a geração de resíduos e usando pequenas quantidades de amostra, o que é importante ao se trabalhar com pequenos animais. Para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, como as preparações lipossomais de articaína é de fundamental importância a quantificação do fármaco estudado nos fluidos biológicos. Além disso, a determinação do perfil farmacocinético é crucial para a prática clínica, pois a atividade terapêutica ou uma eventual toxicidade de um medicamento depende da permanência do princípio ativo no organismo. Assim, a determinação do perfil farmacocinético em animais é uma etapa obrigatória para validar estas novas formulações, buscando o seu futuro uso clínico.

Agradecimentos: FAPESP e CNPq.

**NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS (NLS) COMO CARREADORAS
DE ANESTÉSICOS LOCAIS DESTINADOS A APLICAÇÃO TÓPICA**

Raquel de Melo Barbosa (1), Daniele Ribeiro de Araújo (2), Eneida de Paula (1)

*(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(2) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC – UFABC,
Santo André, SP, Brasil*

Métodos supressores da dor são alvos de grandes pesquisas em todo mundo. No entanto, a dor subtratada ocasiona sintomas desagradáveis associados, quase sempre, a um processo destrutivo tecidual, real ou potencial do corpo. Anestésicos locais evitam ou aliviam a dor crônica ou aguda, por bloquearem reversivelmente o processo de excitação-condução em nervos periféricos, porém possuem toxicidade proporcional à potência da molécula. Como exemplos dos efeitos tóxicos, podem ser citados a neurotoxicidade e/ou cardiotoxicidade decorrentes da absorção sistêmica após a administração local. A dibucaína (DBC), anestésico local do tipo amida e fármaco alvo desse projeto, é um derivado da quinolona. Sua elevada toxicidade resultou a retirada da sua forma injetável do mercado norte-americano tal que, atualmente, encontra-se disponível apenas na forma de cremes e unguentos para uso cutâneo. A veiculação de bioativos em suportes nanoparticulados tem sido muito estudada para substâncias com baixa biodisponibilidade e alta toxicidade. Dentre eles, destacam-se as Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLSs), que unem vantagens dos sistemas transportadores tradicionais com versatilidade de preparo característica. As NLSs utilizam excipientes seguros, possuem um grande potencial para liberação sustentada de fármacos, sendo estáveis à temperatura ambiente e facilmente escalonáveis, o que as torna bastante atrativas para a indústria farmacêutica e cosmética. Este projeto tem como objetivo desenvolver formulações anestésicas de uso tópico, utilizando DBC encapsulada em nanopartículas lipídicas sólidas contendo, como um dos componentes lipídicos, a ceramida. A encapsulação da DBC nas NLSs objetiva aumentar a estabilidade do fármaco, causar liberação mais lenta e prolongada e diminuir sua toxicidade, viabilizando uma nova formulação farmacêutica com possíveis aplicações clínicas.

Agradecimentos: Capes e FAPESP (Proc. 06/00121-9)

**ESTUDO DA TOXICIDADE DE CALIX[N]ARENOS, USADOS COMO
CARREADORES DE TETRACAÍNA PARA LIBERAÇÃO SUSTENTADA**

Clóvis T. Vasconcellos Jr (1), Sérgio Antônio Fernandes (2), Eneida de Paula (1)

*(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas
Gerais*

A utilização de carreadores para encapsulação de fármacos tem sido considerada uma ótima ferramenta para superar barreiras que existam ao uso de um determinado fármaco, como toxicidade, solubilidade, estabilidade, entre outras. Há diversas moléculas que são utilizadas como carreadores, como os lipossomas, biopolímeros, nanopartículas lipídicas sólidas, calixarenos, ciclodextrinas, ... O laboratório de biomembranas tem testado o uso desses carreadores para a liberação sustentada de anestésicos locais. Os calixarenos (compostos macrocíclicos formados por unidades de fenol *para*-sulfonato) foram testados para complexação com o anestésico local tetracaína (TTC) tendo mostrado alta afinidade pela forma protonada daquele anestésico (Fernandes et al, J. Incl.Phén.Macroc.Chem. 57:395, 2007). Neste projeto estudamos calixarenos com 4 e 6 unidades de *para*-sulfonato (calix[4] e calix[6]), em sua forma ácida (Calix-SO₃H) e básica (Calix-SO₃Na). Testes hemolíticos indicaram que calix[4] e calix[6] ácidos são mais hemolíticos (C₅₀= 0,51 e 0,41mM, respectivamente) que a TTC (C₅₀= 6,5mM), em hematócrito de 0,27%. Além disso, os calix[4] e calix[6] ácidos induziram agregação da hemoglobina humana purificada, quando em razões molares acima de 1:100 (Hb:calix) sem, no entanto, provocar oxidação da heme proteína. Nas próximas etapas analisaremos a toxicidade desses calixarenos complexados com TTC, tanto através de testes de hemólise - comparando complexos com compostos livres - quanto de viabilidade celular, em cultura de células 3T3. Desta forma pretendemos avaliar o efeito citotóxico intrínseco dos calixarenos e sua potencialidade como carreadores para novas formulações farmacêuticas de anestésicos locais.

Agradecimentos: FAPESP (Proc. 06/00121-9) e PIBIC/CNPq.

DESENVOLVIMENTO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO PARA O ANESTÉSICO LOCAL DIBUCAÍNA EM HIDROXIPROPIL-BETA- CICLODEXTRINA

Tseng Lei Ti (1) e Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

Anestésicos locais (AL) são moléculas anfifílicas que têm grande afinidade pela membrana celular e sua principal ação é a de inativar o canal de sódio voltagem dependente. AL impedem a propagação do impulso nervoso através da interrupção do processo de excitação em fibras nervosas periféricas e, por isso, são usados para controle da dor crônica ou aguda. Muitos AL utilizados clinicamente apresentam toxicidade proporcional à potência, sendo um grande desafio o desenvolvimento de medicamentos mais potentes e menos tóxicos. Modificar características da molécula anestésica é uma alternativa interessante do ponto de vista farmacêutico como, por exemplo, através do desenvolvimento de sistemas de liberação sustentada. Há relatos na literatura de que a complexação de AL em ciclodextrinas (CDs) aumenta a duração da anestesia ou diminui a toxicidade intrínseca de anestésicos de longa duração como a bupivacaína (Dollo *et al.*, Int. J. Pharm. 131:219, 1996) e ropivacaina (Araújo *et al.*, Eur J Pharm Sci 33:60, 2008). Neste trabalho preparamos uma formulação para o anestésico local dibucaína (DBC), através de sua complexação em hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), de forma a melhorar a limitada solubilidade aquosa deste AL (de Paula & Schreier, Biochim. Biophys. Acta 1240:25, 1995). A DBC pertence a família das amino-amidas e possui um anel quinolínico com um grupamento butila em ligação éter (Figura 1) que lhe confere grande hidrofobicidade. Resultados obtidos até o momento, com complexos preparados pelo método de co-solubilização indicam grande aumento na quantidade de DBC solubilizada e formação de complexos na estequiometria de 1:1 ou 1:2 DBC:HP- β -CD.

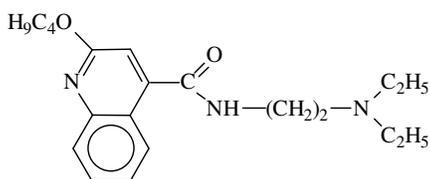


Figura 1: Representação da molécula de dibucaína.

Agradecimentos: FAPESP (Proc. 06/00121-9) e SAE/Unicamp.

**EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PREPARAÇÃO LIPOSSOMAL DE
ROPIVACAÍNA EM BLOQUEIO DO NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM
RATOS**

*Cláudia Lopes Brilhante Bhering (1), Daniela Belisário Baroni (1), Francisco Carlos
Grosso (1), Eneida de Paula (2), Maria Cristina Volpato (1)*

*(1) Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia de
Piracicaba, Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

Tem sido demonstrado aumento do tempo de anestesia em tecidos moles com uso de formulações lipossomais de anestésicos locais. Este estudo avaliou a eficácia anestésica de três formulações de ropivacaína, em modelo de bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos. Trinta ratos Wistar adultos jovens, divididos aleatoriamente em 3 grupos (10 animais/grupo), receberam injeção de 0,2mL, para bloqueio do nervo alveolar inferior, de uma das seguintes formulações: ropivacaína lipossomal 0,5%; ropivacaína 0,5% e ropivacaína 0,5% com epinefrina 1:200.000. Os lados contra-laterais receberam solução de NaCl 0,9% (controle). Previamente à injeção, os animais foram anestesiados com ketamina (Dopalen - 90mg/kg) e xilazina (Rompun, 10mg/kg, via IP), sendo fixados fios de cobre aos molares inferiores de ambos os lados, para permitir a aplicação dos estímulos elétricos (“pulp tester”) na avaliação da anestesia. Após sedação dos animais com diazepam (20mg/kg) e estando os mesmos responsivos a estímulos dolorosos, as formulações foram aplicadas e, após 2 minutos, foi iniciada a avaliação da anestesia. Os resultados foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis (latência e duração da anestesia) e Log-Rank (sucesso da anestesia) com nível de significância 5%. A formulação lipossomal não diferiu da solução de ropivacaína sem aditivos para todos os parâmetros analisados ($p>0,05$). A solução de ropivacaína com epinefrina apresentou maior sucesso e duração da anestesia que as demais formulações ($p<0,05$). Não houve diferença entre as formulações com relação à latência da anestesia ($p>0,05$). Dentro das condições deste estudo, conclui-se que a encapsulação da ropivacaína em lipossomas não aumenta sua eficácia na anestesia pulpar e que ropivacaína associada à epinefrina apresenta maior taxa de sucesso e duração de anestesia pulpar que as formulações lipossomal e sem aditivos.

Agradecimentos: Fapesp.

EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PRILOCAÍNA 3% LIPOSSOMAL EM BLOQUEIO DO NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS

*Gisele Ramos Gayoso (1), Patrícia Maria Wiziack Zago (1), Francisco Carlos Groppo
(1), Eneida de Paula (2), Maria Cristina Volpato (1)*

*(1) Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba,
Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

Estudos em animais têm demonstrado aumento do tempo de anestesia em tecidos moles após infiltração de prilocaína encapsulada em lipossomas unilamelares. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia anestésica (taxa de sucesso, latência e duração da anestesia pulpar) da formulação lipossomal de prilocaína 3% em bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos. Trinta ratos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de 10 animais e submetidos à fixação de fios de cobre nos molares dos dois lados da mandíbula, sob anestesia geral com ketamina e xilazina, via intramuscular. Após o retorno da anestesia os animais foram sedados com diazepam, via intraperitoneal, mantendo resposta nociceptiva, e receberam, próximo ao forame mandibular de um dos lados, injeção de 0,2mL de uma das seguintes formulações: prilocaína 3%, prilocaína 3% lipossomal e prilocaína 3% com felipressina 0,03UI/ml (solução comercial). O lado contralateral recebeu 0,2mL de NaCl 0,9% (controle). Em seguida foi aplicado estímulo elétrico (pulp tester) a cada 2min aos fios conectados aos molares até o animal não apresentar resposta ao estímulo; após, os estímulos foram aplicados a cada 5min até retorno de resposta do animal ao estímulo. Os resultados foram submetidos aos testes G, Log Rank e Krukal-Wallis (nível de significância de 5%). Foi observada maior taxa de sucesso ($p < 0,05$) com uso da solução de prilocaína com felipressina em relação à prilocaína nos tempos de 15, 20 e 25 minutos. A prilocaína lipossomal propiciou maior taxa de sucesso ($p < 0,05$) do que a prilocaína nos tempos de 15 e 20 minutos. Não foram observadas diferenças significantes entre a solução de prilocaína com felipressina e a formulação lipossomal ($p > 0,05$). Não houve diferença entre as 3 formulações com relação à latência. A prilocaína lipossomal e prilocaína associada à felipressina promoveram maior duração da anestesia do que a solução de prilocaína ($p < 0,05$), sem diferenças entre si ($p > 0,05$). A prilocaína lipossomal mostrou-se tão eficaz quanto a solução comercial no modelo de bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos, podendo ser uma alternativa a essa última.

Agradecimentos: Fapesp.

EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PREPARAÇÃO LIPOSSOMAL DE MEPIVACAÍNA EM BLOQUEIO DO NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS

*Tais Munhoz Andrade (1), Luciana Aranha Berto (1), Francisco Carlos Groppo (1),
Eneida de Paula (2), Maria Cristina Volpato (1)*

*(1) Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba,
Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

Foi demonstrado recentemente, em técnica infiltrativa em humanos, que a mepivacaína encapsulada em lipossomas aumenta o tempo de anestesia pulpar e em tecidos moles em comparação com a solução sem aditivos. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia anestésica de quatro formulações injetáveis de mepivacaína, em modelo de bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos. Quarenta ratos Wistar adultos jovens foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (10 animais cada), e receberam injeção de 0,2mL, para bloqueio do nervo alveolar inferior do lado direito, de uma das seguintes formulações: Grupo 1: solução de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000; Grupo 2: solução de mepivacaína 3%; Grupo 3: suspensão lipossomal de mepivacaína 2% e Grupo 4: suspensão lipossomal de mepivacaína 3%. Os lados contra-laterais receberam solução de NaCl 0,9% (controle). Previamente à injeção, os animais foram anestesiados com ketamina (Dopalen - 90mg/kg) e xilazina (Rompun -10mg/kg), sendo fixado um fio de cobre aos molares inferiores dos animais para permitir a aplicação dos estímulos elétricos para avaliação da anestesia. Após sedação dos animais com diazepam (20mg/kg) e estando os mesmos responsivos a estímulos dolorosos, as formulações foram aplicadas e, após dois minutos, iniciou-se a avaliação da anestesia (latência, duração e sucesso da anestesia pulpar) por meio da aplicação de estímulo elétrico (“pulp tester”). Os resultados foram avaliados pelos testes de Kruskal-Wallis e Log-Rank, com nível de significância 5%. Não foram observadas diferenças entre as formulações com relação à duração e sucesso da anestesia, com exceção da formulação de mepivacaína lipossomal 2% que apresentou menor duração que a solução de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000. A solução de mepivacaína 3% apresentou maior latência que as demais. Conclui-se que a encapsulação de mepivacaína na concentração de 3% apresentou efetividade semelhante às formulações de mepivacaína 2% com epinefrina e 3% sem vasoconstritor, no modelo de bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos.
Agradecimentos: Fapesp.

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANESTÉSICA DA LIDOCAÍNA
ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS, EM ANESTESIA TÓPICA PALATINA**

*Daniela Belisário Baroni (1), Patrícia Maria Wiziack Zago (1), Paulo Venâncio (1),
Maria Cristina Volpato (1), Eneida de Paula (2), Francisco Carlos Groppo (1)*

*(1) Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba,
Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

Nos últimos anos, o revestimento de drogas em fosfolipídios, processo conhecido como “encapsulação em lipossomas”, tem sido bastante estudado, representando um método inovador de liberação de drogas em anestesia tópica. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia anestésica de lidocaína encapsulada em lipossomas em anestesia tópica sobre a mucosa palatina. Neste estudo cruzado e duplo-cego, 40 voluntários receberam com ordem de aplicação aleatória 100mg dos seguintes anestésicos tópicos: lidocaína 5% encapsulada em lipossomas, lidocaína 2,5% encapsulada em lipossomas, pomada de lidocaína 5% (Xylocaína pomada® - AstraZeneca), EMLA (EMLA creme® - AstraZeneca), gel placebo e gel placebo lipossomal, na mucosa palatina de caninos superiores. Em cada sessão foram aplicados topicamente 2 anestésicos tópicos durante 2 minutos, totalizando 3 sessões por voluntário. Após a introdução de uma agulha curta 30G e injeção de 16 do tubete de lidocaína com epinefrina 1:100.000, as percepções dolorosas à punção da agulha e injeção do anestésico foram avaliadas em duas escalas analógicas visuais (EAV). Os voluntários também avaliaram em um questionário qual dos anestésicos utilizados teriam preferência em reutilizar caso precisassem novamente de uma anestesia na mucosa palatina. Os resultados para EAV foram submetidos aos testes Friedman ($\alpha=5\%$). Para EMLA®, lidocaína lipossomal 2,5%, lidocaína lipossomal 5%, gel placebo, gel placebo lipossomal e Xylocaína®, respectivamente, as EAV (mediana e desvio interquartilico) de punção foram 0,6 (1,1), 1,3 (1,9), 0,7 (2,4), 2,1 (2,9), 1,4 (2,4) e 2,0 (1,6) cm e as EAV de injeção foram 0,7 (1,5), 1,6 (3), 0,9 (2,1), 2,5 (2,4), 2,3 (2,6) e 2,1 (2,1) cm. As EAV de punção e injeção do EMLA® e lidocaína lipossomal 5% foram menores ($p<0,05$) do que os controles. Não houve diferença entre os demais ($p>0,05$). A preferência dos voluntários foi (%) de 41,0, 25,6, 20,5, 7,7, 2,6 e 2,6 para EMLA®, lidocaína lipossomal 5%, Xylocaína®, lidocaína lipossomal 2,5%, gel placebo e gel placebo lipossomal, respectivamente. A lidocaína lipossomal foi equivalente ao EMLA® em diminuir a dor à punção e injeção, sendo o EMLA® preferido pelos voluntários.

Agradecimentos: Fapesp.

EFICÁCIA ANESTÉSICA DA PRILOCAÍNA LIPOSSOMAL EM TÉCNICA INFILTRATIVA NA MAXILA EM HUMANOS

*Patrícia Maria Wiziack Zago (1), Daniela Belisário Baroni (1), Francisco Carlos
Groppo (1), José Ranali (1), Eneida de Paula (2), Maria Cristina Volpato (1)*

*(1) Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba,
Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

Estudos em animais têm demonstrado que a encapsulação lipossomal da prilocaína aumenta sua eficácia anestésica em tecidos moles. Este estudo randomizado, cruzado e cego teve por objetivo avaliar a eficácia anestésica da formulação lipossomal de prilocaína 3% comparada à prilocaína 3% sem aditivos e prilocaína 3% com felipressina 0,03UI/mL, aplicadas por técnica infiltrativa na região vestibular do canino superior direito em 32 voluntários. As formulações foram aplicadas em 3 sessões, com ordem aleatória de aplicação e intervalo mínimo de 1 semana. O sucesso, a latência e a duração da anestesia pulpar foram avaliados com aplicação de estímulo elétrico no incisivo lateral, canino e primeiro pré-molar superiores; a latência e duração da anestesia em tecidos moles foram avaliadas por pressão com instrumento rombo na gengiva inserida da região vestibular do canino superior direito e a dor à injeção por meio da escala analógica visual (EAV). Considerou-se como sucesso anestésico quando a latência foi menor ou igual a 10 minutos com duração mínima de 10 minutos. Os voluntários e o pesquisador que avaliou as anestésias não tinham conhecimento da formulação aplicada. Os resultados foram submetidos aos testes Kruskal-Wallis (latência e duração da anestesia pulpar), Tuckey (EAV), Friedman (duração da anestesia gengival), Log Rank e McNemar (sucesso). A formulação lipossomal apresentou resultados semelhantes à formulação sem aditivos ($p>0,05$) e estatisticamente inferiores à prilocaína com felipressina ($p<0,05$), com relação à duração de anestesia gengival e sucesso e duração de anestesia pulpar para o canino e pré-molar. Com relação a latência e sucesso da anestesia no incisivo lateral, a prilocaína lipossomal não diferiu das demais formulações ($p>0,05$) e a prilocaína sem aditivos apresentou menor sucesso e maior latência ($p<0,05$) que a prilocaína com felipressina. As formulações não diferiram quanto à duração de anestesia pulpar para o incisivo lateral, dor à injeção e latência anestésica para canino, pré-molar e gengiva ($p>0,05$). Conclui-se que a prilocaína lipossomal apresenta eficácia anestésica semelhante à solução sem aditivos e menor eficácia do que a solução de prilocaína com felipressina em infiltração na maxila, não havendo, portanto, vantagem no seu uso.

Agradecimentos: Fapesp e CNPq.

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO DE LIBERAÇÃO SUSTENTADA PARA ARTICAÍNA

Souza, T. F.(1), Queiroz, V.A.(1), Cereda, C.M.S.(1), de Paula, E (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP,
Brasil.

Com o objetivo de melhorar as propriedades farmacológicas de anestésicos locais (AL) de uso consagrado, sistemas de liberação prolongada (*drug-delivery*) têm sido desenvolvidos, dentre os quais destaca-se os que usam lipossomas como carreador. Lipossomas são vesículas de bicamadas lipídicas formadas por compostos anfifílicos como lipídeos naturais ou sintéticos, que mimetizam membranas biológicas. Nesse trabalho preparamos um sistema para liberação sustentada de Articaína (ATC), um anestésico local com anel tiofênico pertencente à família das amino-amidas, em lipossomas, objetivando aumentar sua biodisponibilidade para melhora do efeito terapêutico do mesmo, seja pela diminuição da concentração clínica (4%), seja pela proteção à hidrólise plasmática.

Lipossomas multilamelares preparados a base de fosfatidilcolina de ovo (EPC) foram preparados e a ATC foi incorporada aos mesmos de forma passiva. Medidas da fluorescência intrínseca da ATC mostraram que a anisotropia de fluorescência da ATC é vinte vezes maior (0,29) do que o valor em solução aquosa (0,01), indicando partição no AL nos lipossomas, comprovada por medidas com o marcador AHBA, que se insere na superfície da bicamada lipídica e cuja emissão de fluorescência foi suprimida na presença de concentrações crescentes de ATC. O teste de estabilidade lipossomal por peroxidação lipídica revelou que a formulação foi estável por até 3 meses de estocagem sob refrigeração a 2°C (níveis de peróxido inferiores a 1,6mM), sendo que nos primeiros dois meses de estocagem a presença de ATC nas vesículas conferiu proteção à formação de peróxidos. A toxicidade *in vitro* da formulação foi avaliada pelo teste de MTT em células 3T3, de fibroblastos de rato, e os resultados mostraram que a formulação lipossomal, ATC_{LUV}, foi menos citotóxica (IC₅₀ = 1,4 vezes, p<0,01) em comparação com ATC livre. Em outro teste de toxicidade, por hemólise, observamos diminuição do efeito hemolítico induzido pela ATC livre (C₅₀= 105mM) na presença de lipossomas. A analgesia *in vivo* foi avaliada através do teste de *tail-flick* após a infiltração das formulações anestésicas em caudas de ratos Wistar. A ATC_{LUV} prolongou a duração da analgesia (em 2 vezes, p<0,001) em relação à ATC livre. Esses resultados indicam um potencial de aplicação clínica de ATC_{LUV} por diminuir a toxidade do AL e aumentar o efeito analgésico.

Agradecimentos: Fapesp (Proc. 06/00121-9 e Proc. 09/01268-1)

EFICÁCIA ANESTÉSICA DA ARTICAÍNA LIPOSSOMAL EM RATOS

Luciana Aranha Berto (1), Maria Cristina Volpato (1), Eneida de Paula (2), Francisco Carlos Groppo (1),

(1) Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil

(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia anestésica de duas formulações lipossomais de articaína (3% e 4%) em bloqueio do nervo alveolar inferior de ratos. 48 animais foram divididos em 6 grupos (n=8), que receberam a injeção de uma das seguintes formulações, no lado direito: Grupo 1: articaína 4% com epinefrina 1:100,000; Grupo 2: articaína 3% lipossomal; Grupo 3: articaína 4% lipossomal; Grupo 4: articaína 4%; Grupo 5: articaína 3% e Grupo 6: lipossomas 4mM sem anestésico local. O lado contralateral recebeu NaCl 0,9% (controle). Para o bloqueio do nervo alveolar inferior, 0,2 mL da preparação foi depositado próximo ao forame mandibular do animal e os parâmetros latência e duração da anestesia pulpar foram avaliados por estímulo elétrico (pulp tester). Os dados foram submetidos ao teste de ANOVA, com nível de significância 5%. O grupo 1 obteve menor latência da anestesia pulpar que os grupos 2, 3, 4 e 5 ($p < 0,05$), que não diferiram entre si ($p > 0,05$). O grupo 1 apresentou a maior duração de anestesia pulpar, seguido pelos grupos 2 e 3. Com relação à duração da anestesia pulpar, não houve diferença entre os grupos 2 e 3 e entre os grupos 4 e 5 ($p > 0,05$). Grupo 6 não obteve efeito anestésico. A encapsulação em lipossomas permitiu aumento na duração da anestesia pulpar da articaína. Entretanto, a articaína 4% com epinefrina obteve maior duração de anestesia pulpar que as formulações lipossomais. Agradecimentos: Fapesp.

EFICÁCIA ANESTÉSICA DA LIDOCAÍNA LIPOSSOMAL EM BLOQUEIO DO NERVO ALVEOLAR INFERIOR EM RATOS

*Camila Batista da Silva (1), Luciana Aranha Berto (1), Francisco Carlos Groppo (1),
Eneida de Paula (2), Maria Cristina Volpato (1)*

*(1) Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba,
Unicamp, Piracicaba, São Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de duas formulações anestésicas locais lipossomais injetáveis de lidocaína a 2% (com e sem epinefrina 1:200.000) comparando-as com soluções comerciais de lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000 e 1:200.000 em bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos. Os animais foram anestesiados com ketamina (Dopalen - 90mg/kg) e xilazina (Rompun -10mg/kg) via intramuscular, sendo fixados fios de cobre nos molares inferiores dos 2 lados. Após o retorno da anestesia geral os animais foram sedados com 25mg/kg de tiopental via intraperitoneal, permanecendo responsivos a estímulo doloroso. Em seguida foi avaliado o limiar basal de resposta pulpar com a aplicação do estímulo elétrico aos dentes (aparelho “pulp tester”), e após esse procedimento, foi realizada a injeção de 0,2mL de formulação anestésica no lado direito para bloqueio do nervo alveolar inferior. O lado esquerdo recebeu solução de NaCl 0,9% (controle). De acordo com o grupo, aleatoriamente formado (10animais/grupo), os animais receberam a injeção de uma das seguintes formulações, próximo ao forame mandibular do lado direito: preparação anestésica local lipossomal de lidocaína 2%; preparação anestésica local lipossomal de lidocaína 2% com epinefrina 1:200.000; lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000 e lidocaína 2% com epinefrina 1:200.000. Foram avaliados sucesso, latência e duração da anestesia pulpar. Os resultados foram submetidos aos testes Kruskal-Wallis (latência e duração da anestesia) e Log-Rank - método B. Rosner (sucesso), com nível de significância de 5%. Não foram observadas diferenças entre as formulações com relação a taxa de sucesso ($p>0,05$), latência ($p=0,2343$) e duração ($p=0,2317$) da anestesia. Conclui-se que as formulações lipossomais de lidocaína 2% com e sem adição de epinefrina 1:200.000 apresentam eficácia anestésica semelhante às formulações de lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000 e 1:200.000, em bloqueio do nervo alveolar inferior em ratos.

Agradecimentos: Fapesp.

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO NÚCLEO OLEOSO NA ESTABILIDADE
FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE LIBERAÇÃO DE NANOCÁPSULAS DE
POLI (LACTÍDEO-CO-GLICOLÍDEO) CONTENDO BENZOCÁINA**

*Nathalie F.S. de Melo (1,2), Renato Grillo (1,2), Eneida de Paula (2), Daniele R. de
Araújo (3), André H. Rosa (1), Leonardo Fernandes Fraceto (1,2)*

*(1) Departamento de Engenharia Ambiental, Unesp/Sorocaba, Sorocaba, São
Paulo, Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(3) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC -
UFABC, Santo André, SP, Brasil*

A benzocaína (BZC) é um anestésico local do tipo éster bastante utilizado em formulações anestésicas de uso tópico devido a sua baixa solubilidade aquosa e ação curta. A associação da BZC com sistemas nanoestruturados poliméricos pode ser capaz de promover efeitos desejáveis como aumento da duração de ação e diminuição da toxicidade sistêmica. Nanocápsulas (NC) consistem em um invólucro de polímero e um núcleo (geralmente oleoso) onde o fármaco pode ser dissolvido no núcleo oleoso ou adsorvido à parede polimérica. A composição deste núcleo oleoso pode influenciar parâmetros físico-químicos como estabilidade, eficiência de associação e perfil de liberação de NC poliméricas. Alguns trabalhos relataram a associação de BZC com NC poliméricas, mas a influência da composição do núcleo oleoso de NC contendo BZC ainda não foi estudada. Neste trabalho, foram preparadas quatro formulações de nanocápsulas de poli-D,L-lactídeo-co-glicolídeo (NC-PLGA) com BZC contendo diferentes óleos (óleo mineral, miristato de isopropila, Cetiol® V e Myritol® 318). Este estudo teve como objetivo avaliar a influência da composição do núcleo oleoso na estabilidade físico química das NC-PLGA BZC (medidas de tamanho, polidispersão, potencial zeta e pH) em função do tempo, quantificação da taxa de associação e ensaio de liberação *in vitro*. A BZC foi incorporada em NC-PLGA, preparadas pelo método de nanoprecipitação e quantificada por CLAE a partir de curva analítica validada, o potencial zeta e o tamanho das partículas foi determinado através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). A BZC livre foi determinada utilizando-se o método de ultrafiltração/centrifugação. O ensaio de liberação *in vitro* foi realizado utilizando-se um modelo de dois compartimentos separados por uma membrana de celulose. O tamanho das NC-PLGA BZC variou entre 136.8 nm e 170.3 nm. O potencial zeta variou entre -17.9 mV e -26.9 mV, indicando estabilidade das formulações. A suspensão de NC-PLGA BZC mostrou-se estável no período de 60 dias de armazenamento em temperatura ambiente. A quantidade de BZC associada às NC-PLA variou entre 67% e 76%. O ensaio de liberação *in vitro* demonstrou liberação sustentada durante 6 h indicando que a associação da BZC com as NC-PLGA modifica o perfil de liberação deste fármaco. A formulação que apresentou maior estabilidade, taxa de associação e melhor perfil de liberação foi a que continha no núcleo oleoso Myritol® 318. Agradecimentos: Fapesp, CNPq e Fundunesp.

**NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO BENZOCAÍNA: RELAÇÃO
ENTRE O PREPARO COM DIFERENTES POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS,
PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* E ATIVIDADE ANESTÉSICA *IN VIVO***

*Nathalie F.S. de Melo (1,2), Renato Grillo (1,2), Carolina Morales Moraes (2), Eneida
de Paula (2), Daniele R. de Araújo (3), André H. Rosa (1), Leonardo Fernandes
Fraceto (1,2)*

*(1) Departamento de Engenharia Ambiental, Unesp/Sorocaba, Sorocaba, São Paulo,
Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(3) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC - UFABC,
Santo André, SP, Brasil*

Os anestésicos locais (AL) estão entre as diferentes classes de compostos farmacológicos utilizados para atenuar ou eliminar a dor. A benzocaína (BZC) é um AL obtido a partir da esterificação do ácido p-aminobenzóico (PABA) muito utilizada em anestesia tópica apresentando baixa solubilidade em água. Nanocápsulas (NC) são sistemas carreadores de fármacos constituídos por um invólucro polimérico e um núcleo oleoso. Esses carreadores são capazes de modificar propriedades farmacocinéticas, promover liberação modificada, aumentar biodisponibilidade e diminuir toxicidade. Neste trabalho, desenvolveu-se nanocápsulas utilizando os polímeros biodegradáveis poli-D,L-lactídeo-co-glicolídeo (PLGA), poli-L-lactídeo (PLA) e poli-ε-caprolactona (PCL) veiculando BZC. Este estudo teve como objetivo avaliar o preparo de NC com diferentes polímeros biodegradáveis e sua influência no perfil de liberação *in vitro* e atividade anestésica *in vivo*. As NC foram preparadas pelo método de nanoprecipitação onde foi incorporada a BZC e quantificada por CLAE a partir de curva analítica validada. O potencial zeta e o tamanho das partículas foi determinado através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). A BZC livre foi determinada utilizando-se o método de ultrafiltração/centrifugação. O ensaio de liberação *in vitro* foi realizado utilizando-se um modelo de dois compartimentos separados por uma membrana de celulose. A avaliação da atividade anestésica *in vivo* foi realizada através do modelo de bloqueio sensorial e motor do nervo ciático em ratos. O diâmetro médio das NC contendo BZC foi de 136 nm. O potencial zeta das partículas variou entre -26.9 mV e -36.4 mV, indicando estabilidade das formulações. A quantidade de BZC associada às NC foi de 75%. O ensaio de liberação *in vitro* demonstrou perfil de liberação sustentada durante 8 h indicando que as NC modificam o perfil de liberação da BZC. A avaliação da atividade anestésica *in vivo* demonstrou que as formulações de NC contendo BZC foram capazes de aumentar a intensidade e duração do bloqueio sensorial e motor abrindo perspectivas para a futura utilização de NC poliméricas como um veículo para a BZC.

Agradecimentos: Fapesp, CNPq e Fundunesp.

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS DE POLI
(LACTÍDEO-CO-GLICOLÍDEO) CONTENDO 0,5% DE BENZOCAÍNA:
PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ESTABILIDADE**

*Nathalie F.S. de Melo (1,2), Renato Grillo(1,2), Eneida de Paula (2), Daniele R. de
Araújo (3), André H. Rosa (1), Leonardo Fernandes Fraceto (1,2)*

*(1) Departamento de Engenharia Ambiental, Unesp/Sorocaba, Sorocaba, São Paulo,
Brasil*

*(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São
Paulo, Brasil*

*(3) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC - UFABC,
Santo André, SP, Brasil*

Apesar dos recentes avanços na investigação básica e clínica para novos agentes terapêuticos, o tratamento da dor ainda é um desafio. Os anestésicos locais (AL) são fármacos capazes de bloquear a sensação dolorosa em virtude da sua ligação com canais de sódio voltagem-dependente das membranas neuronais impedindo o influxo dos íons sódio e a propagação do impulso nervoso. A benzocaína (BZC) é um anestésico local que apresenta baixa solubilidade em água, o que limita seu uso em aplicação tópica. O termo nanopartícula refere-se à nanoesferas (NE) e nanocápsulas (NC) que são nanocarreadores com estrutura matricial e vesicular, respectivamente. Trabalhos da literatura descrevem associação de BZC com nanopartículas poliméricas, porém o aumento da concentração de BZC nesses sistemas e influência na estabilidade ainda não foram avaliados. Neste trabalho, desenvolveu-se nanocápsulas utilizando o polímero biodegradável poli-D,L-lactídeo-co-glicolídeo (PLGA) veiculando o AL BZC na concentração 0,5%. Este estudo teve como objetivo otimizar o preparo das NC utilizando um planejamento fatorial fracionário, caracterizar a associação entre a BZC e as NC-PLGA e avaliar a estabilidade das suspensões em função do tempo. O planejamento fatorial fracionário foi utilizado para estudar a influência de quatro variáveis independentes em dois níveis (alto e baixo) na resposta de associação de BZC. A BZC foi incorporada em NC-PLGA, preparadas pelo método de nanoprecipitação e quantificada por CLAE a partir de curva analítica validada, o potencial zeta e o tamanho das partículas foi determinado através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). A BZC livre foi determinada utilizando-se o método de ultrafiltração/centrifugação. A quantidade de polímero e tensoativo na fase externa apresentaram significativa influência estatística na associação de BZC nas NC-PLGA. O diâmetro das NC-PLA contendo BZC variou entre 180 nm e 250 nm. O potencial zeta das partículas variou entre -25.1 mV e -40.5 mV, indicando estabilidade das formulações. As suspensões de NC-PLGA contendo BZC mostram-se estáveis no período de 120 dias devido a pouca variação dos parâmetros estudados. A quantidade de BZC associada às NC-PLA variou entre 80% e 92%. No geral, os resultados mostraram que NC-PLGA contendo BZC pode ser considerado um carreador promissor para esse AL uma vez que demonstrou estabilidade e alta eficiência de associação.

Agradecimentos: Fapesp, CNPq e Fundunesp.

**NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE ALGINATO/QUITOSANA
E ALGINATO/AOT PARA O ANESTÉSICO LOCAL BUPIVACAÍNA:
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANESTÉSICA**

Renato Grillo (1), Nathalie F. S. de Melo (1,2), Daniele R. de Araújo(3), Eneida de Paula(2), André H. Rosa (1), Leonardo F. Fraceto (1,2)

(1) Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Sorocaba, S/P

(2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas S/P

(3) Centro de Ciências humana e Natural, Universidade Federal do ABC, Santo André, S/P

Os anestésicos locais (AL) são moléculas anfifílicas utilizadas no controle da dor crônica ou aguda e que possuem toxicidade proporcional à potência. A bupivacaína (BVC; S75-R25, NovaBupi[®]) é um anestésico local da classe dos amino-amidas que produz anestesia prolongada e pode estar associado a efeitos cardiotoxícos [Goodman *et al.*, 1996 Novas bases terapêuticas, McGraw-Hill]. Uma alternativa capaz de promover a melhora dos efeitos desejáveis dos AL é a liberação modificada dos fármacos. Nanopartículas de alginato, um polissacarídeo poliânion extraído de algas marrons, contendo anestésico local bupivacaína (0,5%) foram preparadas por dois métodos distintos, utilizando o polímero quitosana e o surfactante sódio bis(2-etilhexil) sulfosuccinato (AOT), com o intuito de aumentar o tempo de anestesia bem como reduzir sua toxicidade, local ou sistêmica. Nanopartículas de alginato/quitosana foram preparadas por gelificação iônica [Sarmiento *et al.*, 2006 Carbohydrate Polymers 66 1-7] e de alginato/AOT por dupla emulsão [Chavanpatil *et al.*, 2007 J. Pharm. Scien. 96, 3379-3389]. A BVC foi quantificada por CLAE e a eficiência de encapsulação foi determinada pelo método de ultrafiltração/centrifugação [Schaffazick *et al.*, 2003 Quim. Nova 26, 726-737]. O tamanho e o potencial zeta das nanopartículas foram determinados durante 30 dias, utilizando um analisador de tamanho de partículas (Malvern Zetasizer) e ensaios de cinética de liberação foram realizados [Paavola *et al.*, 1995 Pharm. Res. 12, 1997-2002]. Ensaios *in vitro* de determinação de viabilidade celular (MTT) [Mosmann, 1983 J. Immunol. Methods 65, 55-63] e *in vivo* (bloqueio nervo ciático) [Leszczynska *et al.*, 1992 J. Pharmacol. Meth 27, 85-93] foram feitos a fim de avaliar a citotoxicidade celular e a intensidade e prolongamento da analgesia, respectivamente. A quantidade de fármaco associada às nanopartículas de alginato/AOT e alginato/Quitosana foram $87 \pm 1,5$ e $76 \pm 0,9\%$, respectivamente. As medidas de diâmetro e potencial zeta apresentaram boa estabilidade. A cinética de liberação *in vitro* mostrou diferença entre o perfil de liberação da BVC livre, comparada com a BVC associada às nanopartículas. Ensaios *in vitro* e *in vivo* mostraram que as nanopartículas de alginato/Quitosana e alginato/AOT apresentaram baixa toxicidade em células de fibroblasto-3T3, aumentando a intensidade e prolongando a duração do bloqueio motor e sensorial no modelo de bloqueio do nervo ciático. Os resultados deste projeto até o momento são bem promissores e indicam que a utilização de nanopartículas de alginato contendo bupivacaína pode ser uma boa alternativa para o tratamento da dor.

Agradecimentos: Fapesp, CNPQ and Fundunesp

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE POLI(LACTÍDEO-CO-GLICOLÍDEO) CONTENDO DIBUCAÍNA

Elisa Bufolo (1), Leonardo Fernandes Fraceto (1,2), Eneida de Paula (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brasil

(2) Departamento de Engenharia Ambiental, Unesp/Sorocaba, Sorocaba, São Paulo, Brasil

Anestésicos locais (AL) são moléculas anfifílicas que ligam-se reversivelmente à membranas excitáveis, impedindo a propagação do estímulo nervoso. Um AL ideal deve possuir longa duração de ação e baixa toxicidade. Uma das maneiras de prolongar a duração e diminuir a toxicidade de fármacos é através do uso de sistemas de liberação nanoparticulados. Os sistemas de liberação de fármacos são capazes de compartimentalizar a substância ativa e direcioná-la a sítios ativos específicos, além de modular a velocidade de liberação, sem alterar a estrutura química da molécula transportada. Este projeto visou preparar e caracterizar um novo sistema de liberação sustentada, utilizando nanopartículas compostas pelo polímero poli-lactídeo-co-glicolídeo (PLGA 50:50), para dibucaína, a fim de melhorar as propriedades farmacológicas deste AL, objetivando futura aplicação clínica. 3 formulações de nanoesferas com DBC a 0,5% foram preparadas, variando-se a proporção de PLGA e álcool polivinílico. As partículas obtidas foram caracterizadas por meio de medidas de pH, potencial zeta, tamanho e polidispersão, taxa de associação, ensaios de liberação *in vitro*, além de testes de citotoxicidade *in vitro*. As 3 formulações apresentaram taxas de associação com DBC superiores a 70%, tamanho apropriado (entre 100 a 300 nm) com baixa polidispersão ($p < 0,3$) e potencial Zeta entre -10 e -15mV. Ensaios de liberação *in vitro* demonstraram que as nanoesferas foram capazes de retardar a liberação da DBC em relação à uma solução aquosa contendo o anestésico. Além disso, as formulações apresentaram baixa citotoxicidade sobre células 3T3 em cultura. Em conjunto esses resultados demonstram bom potencial de futura aplicação clínica para as nanoesferas testadas com DBC.

Apoio: Fapesp (Proc. 06/00121-9 e 09/09815-1) e PIBIC/CNPq.