

ESTUDO DE ESTABILIDADE DE CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS

ARTHUR SPERRY APPEL¹; RAPHAEL BOSCHERO²; GABRIELA HÄDRICH³;
JULIANA BIDONE⁴; CRISTIANA LIMA DORA⁵

¹ Universidade Federal do Rio Grande – sperryarthur@hotmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande – r.boschero@gmail.com

³ Universidade Federal do Rio Grande – gabrielahadrich@furg.br

⁴ Universidade Federal do Rio Grande – julianabidone@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Rio Grande – cristianadora@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma ciência transversal que conecta diversas áreas do conhecimento e com isto, possui ampla aplicabilidade. Quando aliada a farmacologia e a biotecnologia possibilita o desenvolvimento de sistemas de liberação de medicamentos mais seguros e eficazes uma vez que os fármacos encontram-se encapsulados em nanocarreadores. Dentre os diversos tipos de nanocarreadores, destacam-se os produzidos a partir de lipídeos. Estes podem variar de acordo com o estado físico do lipídeo que compõe sua matriz sendo eles: nanoemulsões (NE), nas quais a matriz lipídica é composta por um óleo, nanocarreadores sólidos lipídicos (NSL) que possuem como matriz, um lipídeo sólido a temperatura corpórea e ambiente, e carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) compostos por uma matriz constituída por uma mistura de lipídeos sólidos e líquidos. As NE possuem segurança toxicológica e alta taxa de incorporação de fármacos além da possibilidade de scale-up por diversos métodos. No entanto não possuem grande capacidade de prolongar a liberação dos fármacos encapsulados. Já os SLN, possuem como vantagem o controle da liberação, mas devido a estrutura cristalina dos lipídeos e sua alta organização, os compostos encapsulados tendem a serem expulsos ao longo do tempo do nanocarreador (Mäder; Mehnert, 2001; Müller et al, 2002). Por outro lado, os CLN apresentam comportamento interessante uma vez que possuem gotas de óleo no interior de uma estrutura cristalina, possuindo assim uma estrutura menos ordenada, ou ainda uma estrutura sólida amorfa. Desta forma, esses nanocarreadores apresentam vantagens frente aos SLN, pois o fármaco se dissolve no óleo ao mesmo tempo em que é envolto por um lipídio sólido (Tamjidi et al., 2013) possibilitando o controle da liberação de um fármaco; aumento da estabilidade; maior capacidade de incorporação de fármacos; ausência de toxicidade; ausência do uso de solventes orgânicos; facilidade em scale-up e possibilidade de esterilização (Mäder; Mehnert, 2001).. A estabilidade de produtos farmacêuticos, segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Farmaceuticos da ANVISA, depende de fatores ambientais como temperatura, umidade e luz, e de outros relacionados ao próprio produto. O controle de tais fatores se torna importante a fim de prever, determinar ou acompanhar o seu prazo de validade. O objetivo deste estudo é avaliar a estabilidade de carreadores lipídicos nanoestruturados, produzidos pela técnica de homogeneização de alta pressão (HAP), em três diferentes condições de temperatura de armazenamento (5° C, temperatura ambiente e 37°C) visando futuramente desenvolver uma plataforma para encapsular fármacos.

2. METODOLOGIA

2.1. Técnica de preparo e teste de estabilidade

Foram desenvolvidos CLN através da técnica de homogeneização de alta pressão (HAP) (Muller and Lucks, 1996). A fase oleosa foi composta de trimiristina (lipídeo sólido), óleo de rícino (lipídeo líquido) e o surfactante da fase oleosa, lecitina de ovo. Já a fase aquosa, foi composta de estearato de PEG-660

preparado em PBS pH 7,2. As proporções de lipídio sólido e líquido foram de 70 e 30%, respectivamente. A fase oleosa foi fundida em temperatura de aproximadamente 10°C acima do ponto de fusão do lipídeo sólido. Após fusão, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa sob agitação, para a formação de uma emulsão com gotículas micrométricas denominada Pré-mix. Após esta etapa, o pré-mix foi submetido ao Ultraturrax por dois minutos a 14000 rpm. Após, a fim de tornar as gotículas nanométricas, verteu-se a formulação no HAP e a pressão foi ajustada e mantida em 10.000 psi e iniciou-se a contagem de seis ciclos. Submeteram-se as formulações a três diferentes condições: temperatura ambiente, refrigeração a 5°C e estufa a 40°C e estas formulações foram analisadas em intervalos de 0, 15 e 30 dias. O método de estudo utilizado foi o de estabilidade de acompanhamento, o qual apresenta aplicabilidade nos casos em que se deseja verificar que um produto farmacêutico mantém suas características físicas ou químicas.

2.2. Análises de tamanho, índice de polidispersão e potencial zeta

As análises foram realizadas em um Zetasizer Nano ZS (Malvern®), este aparelho utiliza o princípio do espalhamento da luz dinâmico, técnica que mede a difusão das partículas movendo-se em movimento Browniano, convertendo esse valor em tamanho e índice de polidispersão (IP) por meio da relação de Stokes-Einstein. Para avaliação do Potencial Zeta utilizou-se da Anemometria Laser Doppler. Nesse método, um campo elétrico foi aplicado na solução de amostra, induzindo-as a um movimento com velocidade diretamente relacionada ao potencial zeta das partículas. Isso permite o cálculo da mobilidade eletroforética pela qual se mede o potencial zeta e a distribuição do mesmo (Malvern, 2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível, através da técnica de HAP, obter CLNs na escala nanométrica (Tabela 1). As formulações foram avaliadas ao longo de 30 dias e foi observado que quando armazenadas em geladeira as mesmas sofreram um discreto aumento de tamanho. No entanto, ao avaliar o IP foi possível observar que as partículas permaneceram monodispersas (Tabela 2).

Tabela 1. Resultados do tamanho dos CLNs nos períodos de 0, 14 e 30 dias.

TAMANHO	Dia 0	Dia 14	Dia 30
Geladeira	208,2±1,193	374,9±10,6	309,16±18,8
Temperatura ambiente	225,4±2,3	513,9±162,2	768,6±272,8
Estufa 40°C	259,4±2,30	645,6±60,65	3185,7±1093,4

Tabela 2. Dados de índice de polidispersão (IP) dos CLNs obtidos no período de 0, 14 e 30 dias

IP	Dia 0	Dia 14	Dia 30
Geladeira	0,163±0,008	0,328±0,050	0,274±0,0162
Temperatura ambiente	0,208±0,050	0,695±0,291	0,726±0,1301
Estufa 40°C	0,288±0,067	0,807±0,059	0,866±0,1523

O potencial zeta (Tabela 3) reflete na estabilidade física em longo prazo. A repulsão eletrostática entre partículas de mesma carga evita a ocorrência de agregação, visto que o valor obtido é alto o suficiente para que o módulo das

cargas elétricas realize repulsão. O potencial zeta dos nanocarreadores desenvolvidos foi negativo conforme esperado, sendo atribuído a alguns componentes da lecitina de ovo.

Tabela 3. Resultados de Potencial zeta obtidos nos tempos de 0, 14 e 30 dias

Parâmetro	Dia 0	Dia 14	Dia 30
Geladeira	-33,4±1,2	-37,1±1,1	-15,40±2,333
Temperatura ambiente	-39,4±2,2	-34,2±1,7	-26,37±0,777
Estufa 40°C	-30,2±2,3	-25,6±1,8	-28,01±6,296

Diante do exposto, foi observado que ao armazenar as formulações na geladeira as características físico-químicas permaneceram estáveis pelo período de 30 dias. Tanto nas formulações armazenadas em temperatura ambiente quanto nas armazenadas em estufa a 40°C foi possível observar um aumento no tamanho das partículas e, além disto, elas tornaram-se polidispersas provavelmente formaram-se agregados.

4. CONCLUSÕES

Foi possível avaliar a estabilidade dos CLN produzidos nas três diferentes condições de armazenamento, apoiando-se no método de verificação de estabilidade por acompanhamento protocolado pela ANVISA. Dentre as diferentes condições utilizadas, aquela que apresentou valores mais satisfatórios a respeito das formulações foi em geladeira. Os dados indicam que uma posterior aplicabilidade de encapsular fármacos nos CLN produzidos seria possível desde que a temperatura fosse controlada.

O grande diferencial desse estudo está no fato de que, baseando-se no comportamento dos CLN na proporção escolhida, é possível de se estabelecer uma plataforma de encapsulação de fármacos. Posteriormente, num produto, é possível prever vida de prateleira, prazos de validade, entre outros fatores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Guterres, S. S.; Alves, M. P.; Pohlmann, A. R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. **Drug Target Insights**, Porto Alegre, vol. 2, nº 147, 2007.

MÜLLER, R. H. et al. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Berlin, v. 54, p. 131-155, 2002.

Wenhua, L. V.; Shuangni, Z.; Hui, Y.; Na, L.; Vasil, M. G.; Yiyin, C.; Peihao, Y.; Rongguang, Z.; Yabin, G.; Aihua, Z. Brucea javanica oil-loaded nanostructure lipid carriers (BJO NLCs): Preparation, characterization and in vitro evaluation, **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, Shanghai, 2016.

Severino, P.; Santana, A. M. H.; Souto, B. E.; Optimizing SLN and NLC by 2² full factorial design: Effect of homogenization technique, **Materials Science and Engineering C**, Porto, 2012.

Tamjidi, F.; Shahedi, M.; Varshosaz, J.; Nasirpour, A.; Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactivefood molecules, **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Iran, 2013.

Mäder, K.; Mehnert, W. Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications, **Advanced Drug Delivery Reviews**, Berlin, 2001.

European Patent Office, **Arzneistoffträger Aus Festen Lipidnanosphären (SLN)**, Europäische Patentschrift, Berlin, 20 mar. 1996. Acessado em 21 jul. 2016. Online. Disponível em: <http://www.google.com/patents/EP0605497B1?cl=de>

Governo do Brasil, **Guia para Realização de Estudos de Estabilidade**, ANVISA, Brasília, 29 jul. 2005. Acessado em 21 jul. 2016. Online. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01_05_re_comentada.pdf