

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Estudo da influência da composição lipofílica sobre as características físico-químicas
de suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico

MARIANA DOMINGUES BIANCHIN

PORTO ALEGRE, 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Estudo da influência da composição lipofílica sobre as características físico-químicas de suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico

Dissertação apresentada por **Mariana Domingues Bianchin** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Raffin Pohlmann

Porto Alegre, 2012

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30 de março de 2012, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Alexandre José Macedo
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Letícia Cruz
Universidade Federal de Santa Maria

Profa. Dra. Nereide Stela Santos Magalhães
Universidade Federal de Pernambuco

CIP - Catalogação na Publicação

Domingues Bianchin, Mariana
Estudo da influência da composição lipofílica sobre as características físico-químicas de suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico / Mariana Domingues Bianchin. -- 2012.
126 f.

Orientadora: Adriana Raffin Pohlmann.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Nanocápsulas de núcleo lipídico. 2. Componentes lipofílicos. 3. Perfil gráfico. 4. Liberação in vitro. I. Raffin Pohlmann, Adriana, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório K204 do Instituto de Química e no Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia, ambos da UFRGS, na cidade de Porto Alegre. A autora recebeu bolsa de estudos da CAPES.

DEDICO

*Aos meus pais Nelson e Gislaine,
à minha irmã Eduarda e
ao meu companheiro Lucas.*

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Adriana Pohlmann, pela oportunidade de fazer parte deste grupo de pesquisa, atenção dispensada durante a realização do trabalho, ensinamentos e toda confiança depositada. À professora Dra. Sílvia Guterres, pelas contribuições e conhecimentos repassados.

À CAPES, órgão financiador da bolsa de pesquisa.

Aos amigos e colegas do Laboratório K204 do Instituto de Química e Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia pela companhia e amizade. Em especial, agradeço as colegas Catiúscia Oliveira, Evelise Assumpção, Kelly Bueno, Luana Fiel, Renata Contri e Thatiana Terroso, pela acolhedora recepção e amizade.

À minha querida amiga Irene Kulkamp, pela amizade, paciência, confiança, motivação e contribuições.

À minha tia e amiga Rita de Cássia pela amizade, carinho e incentivo.

Ao meu companheiro Lucas, pelo apoio, cuidado, companheirismo, carinho, compreensão, ajudas prestadas e todo o amor dedicado.

À minha irmã Eduarda, pela amizade, carinho, apoio e compreensão pelos meus momentos de ausência.

Aos meus pais Nelson e Gislaine, pela amizade, confiança, dedicação, apoio, incentivo e amor incondicional. Grandes responsáveis por todas minhas conquistas, pois nunca mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

Agradeço a Deus por ter me permitido alcançar mais esta conquista.

RESUMO

As nanocápsulas de núcleo lipídico se diferem das nanocápsulas convencionais pela adição de um componente lipofílico sólido, o monoestearato de sorbitano. O núcleo lipídico de tais nanocápsulas é composto principalmente por monoestearato de sorbitano, como componente lipofílico sólido e triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico como componente lipofílico líquido. O objetivo deste trabalho consistiu em desenvolver novas alternativas de combinações lipofílicas para compor o núcleo lipídico das nanocápsulas e a partir do conjunto de resultados obtidos na caracterização destas, desenvolver uma estratégia de análise por perfil gráfico, bem como avaliar a influência de diferentes combinações no perfil de liberação *in vitro* de uma substância modelo. As nanocápsulas foram obtidas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado, em duas frações volumétricas distintas (série diluída e série semidiluída), utilizando poli(ϵ -caprolactona) como polímero. Como componentes lipofílicos sólidos foram utilizados: monoestearato de sorbitano, palmitato de cetila, ácido esteárico ou colesterol e como componentes lipofílicos líquidos: triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico, óleo mineral, metoxicinamato de octila ou ácido oléico. Em ambas as séries, os perfis gráficos das formulações obtidas demonstraram que o ácido esteárico não se mostrou adequado para compor o núcleo lipídico das nanocápsulas em combinação com nenhum dos componentes lipofílicos líquidos, assim como o colesterol não se mostrou adequado em combinação com metoxicinamato de octila na série diluída e com triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico na série semidiluída. O experimento de liberação *in vitro* de substância modelo demonstrou perfis e velocidades de liberação diferentes para todas as formulações utilizadas, assim como a velocidade e o fluxo de liberação foram maiores em função da adição de palmitato de cetila ao invés de monoestearato de sorbitano. Como conclusão, combinações lipofílicas inovadoras para compor o núcleo lipídico das nanocápsulas foram desenvolvidas, assim como uma estratégia inédita de análise por perfis gráficos que permite verificar a qualidade nanotecnológica das nanocápsulas. O estudo de liberação *in vitro* demonstrou que a composição lipofílica do núcleo lipídico das nanocápsulas exerce influência no perfil de liberação da substância modelo.

Palavras-chaves: nanocápsulas de núcleo lipídico, componentes lipofílicos, perfil gráfico, liberação *in vitro*.

ABSTRACT

The influence of the lipophilic composition on the physicochemical characteristics of lipid-core nanocapsule suspensions

Lipid-core nanocapsules differ from conventional nanocapsules by the addition of a solid lipophilic component, the sorbitan monostearate. The lipid core of such nanocapsules is mainly composed by sorbitan monostearate, as solid lipophilic component, and capric/caprylic triglycerides as liquid lipophilic component. The aim of this work consisted of developing new choices of lipophilic combinations to compose the oily core of the nanocapsules and, based on the results obtained in their physicochemical characterization, to develop a strategy of graphical profile analyses, as well as to evaluate the influence of the different lipophilic combinations in the *in vitro* release profile of a model substance. The nanocapsules were obtained by the interfacial deposition of pre-formed polymer method in two distinct volumetric fractions (diluted and semi-diluted series), using poly(ϵ -caprolactone) as polymer. As solid lipophilic components, sorbitan monostearate, cetyl palmitate, stearic acid and cholesterol were used and as liquid lipophilic components capric/caprylic triglycerides, mineral oil, octyl methoxycinnamate and oleic acid were applied. In both series, the graphical profiles of the formulations demonstrated that the stearic acid was not suitable for, in any possible combinations with the liquid lipophilic component, composing the lipid core of the nanocapsules. The same way, the cholesterol was not considered suitable in combination with octyl methoxycinnamate in the diluted series and with capric/caprylic triglycerides in the semi-diluted series. The *in vitro* release of the model substance demonstrated different release profiles and release rates, when comparing all the formulations applied, and besides, the release rate and flux were higher as a function of the addition of cetyl palmitate instead of sorbitan monostearate. As conclusion, innovative lipophilic combinations for composing the oily core of the nanocapsules were developed, as well as a novel strategy of graphical profiles analyses that allows the verification of the nanotechnological quality of the nanocapsules. The *in vitro* release study showed that the lipophilic combination of the lipid core exerts influence on the release profile of the model drug.

Keywords: lipid-core nanocapsules, lipophilic components, graphical profile, *in vitro* release.

3.1 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

No decorrer dos anos surgiram inúmeros sistemas de liberação de fármacos, compostos principalmente de lipídeos e polímeros biodegradáveis, incluindo micropartículas e sistemas coloidais (nanopartículas e lipossomas). Estes sistemas representam uma estratégia diferenciada para administração (oral, ocular, cutânea, parenteral), liberação e a vetorização de fármacos a sítios específicos de ação (tecido, célula ou órgão), a fim de melhorar o potencial terapêutico e evitar os efeitos adversos decorrentes da ação inespecífica (BARRATT, 2003; SAHOO e LABHASETWAR, 2003; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; COUVREUR & VAUTHIER, 2006; GUTERRES *et al.*, 2007; TEDESCO *et al.*, 2007).

De modo geral, os sistemas de liberação nanoestruturados possuem diversas vantagens comparados aos sistemas convencionais: maior eficácia terapêutica com liberação progressiva e controlada do fármaco; redução da toxicidade; maior tempo de permanência na circulação; administração segura; regime da dosagem (mais conveniente e econômico); reduzido número de doses (facilita adesão ao tratamento) e direcionamento a alvos específicos. Estas vantagens estão relacionadas principalmente à versatilidade dos sistemas, nos quais diferentes agentes terapêuticos podem ser encapsulados, dispersos ou dissolvidos; bem como do tamanho reduzido destes, o qual permite que penetrem por meio de pequenos capilares e sejam capturados por células, atravessando barreiras biológicas (BARRATT, 2003; GUTERRES *et al.*, 2007; TEDESCO *et al.*, 2007; GUTERRES *et al.*, 2010).

3.2 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Nanopartículas poliméricas são sistemas de liberação controlada de fármacos com diâmetro médio inferior a 1 μm e distribuição de tamanho estreita e unimodal (SAHOO e LABHASETWAR, 2003; SOPPIMATH *et al.*, 2001; GUTERRES *et al.*, 2010; DE MELO *et al.*, 2011). As nanopartículas poliméricas possuem vantagens particulares quando comparadas a outros nanocarreadores, como a elevada capacidade de carga de fármacos, o que pode levar ao aumento na liberação intracelular, a proteção do fármaco incorporado promovendo maior estabilidade nos

fluidos biológicos e durante o armazenamento, o controle da liberação e o potencial de modificação da superfície por meio de transformações químicas (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; RONEY *et al.*, 2005; COUVREUR & VAUTHIER, 2006; KÜLKAMP *et al.*, 2009; VENTURINI *et al.*, 20011). Para a preparação destas nanopartículas são utilizados métodos baseados na polimerização *in situ* de monômeros dispersos (GALLARDO *et al.*, 1993) ou na precipitação de polímero pré-formado (FESSI *et al.*, 1989), sendo o segundo mais utilizado devido à maior simplicidade e reprodutibilidade (LEGRAND *et al.*, 1999; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Dependendo da composição e organização estrutural, as nanopartículas poliméricas podem ser classificadas como nanocápsulas ou nanoesferas. As nanocápsulas são constituídas por uma fina camada polimérica disposta ao redor de um núcleo oleoso ou aquoso, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. As nanoesferas não apresentam óleo em sua composição e são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido. O que difere as nanocápsulas das nanoesferas é a ausência de núcleo lipídico nas nanoesferas (BARRATT, 2003; SOPPIMATH *et al.*, 2001; SAHOO e LABHASETWAR, 2003; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; GUTERRES *et al.*, 2007; GUTERRES *et al.*, 2010).

Diversos tipos de polímeros têm sido utilizados para a preparação das nanopartículas poliméricas, desde polímeros naturais como albumina e quitosana, semissintéticos como etilcelulose ou sintéticos como poli(ϵ -caprolactona) e poli(lactídeo) (LAMPRECHT *et al.*, 2000; GUTERRES *et al.*, 2007; DE MELO *et al.*, 2011). Os polímeros sintéticos, biodegradáveis ou não, são os mais utilizados. A utilização de polímeros biodegradáveis na preparação de nanopartículas tem sido descrita como uma vantagem no controle da liberação sustentada do fármaco dentro do sítio alvo durante períodos maiores de tempo (SAHOO e LABHASETWAR, 2003). O poli(ϵ -caprolactona) é um polímero alifático sintético semicristalino de degradação lenta, pertencente à classe dos poliésteres, com propriedades biocompatíveis e biodegradáveis, bastante empregado no desenvolvimento de nanopartículas (SINHA *et al.*, 2004; LAMPRECHT *et al.*, 2000; GUTERRES *et al.*, 2007).

O constituinte lipofílico líquido (óleo) pode influenciar nas propriedades físico-químicas e na estabilidade das nanocápsulas, além de estar relacionado ao

aumento na concentração de fármaco nas nanocápsulas em relação às nanoesferas (GUTERRES *et al.*, 2007; MOSQUEIRA *et al.*, 2000). Assim, um componente lipofílico líquido adequado para compor as nanocápsulas deve apresentar ausência de toxicidade, estabilidade físico-química adequada e elevada afinidade pelo fármaco (DE MELO *et al.*, 2011). MOSQUEIRA e col. (2000) observaram que o aumento da fração de óleo na composição das nanocápsulas conduziu ao aumento no tamanho da partícula. DE MELO e col. (2011) demonstraram que a utilização de óleo mineral em nanocápsulas de benzocaína promoveu melhor estabilidade, perfil de liberação mais lento e aumento da atividade local do fármaco, quando comparado aos óleos miristato de isopropila e oleato de decila. Os tensoativos são requeridos nas formulações de nanopartículas no intuito de prevenir ou retardar a aglomeração das partículas, a fim de prolongar a estabilidade física destes sistemas durante o tempo de armazenamento (MOSQUEIRA *et al.*, 2000; GUTERRES *et al.*, 2007).

3.3 NANOCÁPSULAS DE NÚCLEO LIPÍDICO

Nosso grupo de pesquisa desenvolveu um novo tipo de nanopartículas poliméricas, denominadas nanocápsulas de núcleo lipídico (MÜLLER *et al.*, 2001; JÄGER *et al.*, 2009; VENTURINI *et al.*, 20011). Estes nanocarreadores diferem-se das nanocápsulas poliméricas convencionais pela presença de uma dispersão de monoestearato de sorbitano em triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico no núcleo lipídico, o qual foi demonstrado por calorimetria exploratória diferencial (MÜLLER *et al.*, 2001), espalhamento de raios-x a baixo ângulo (CRUZ *et al.*, 2006b), cinética de liberação comparando diferentes viscosidades do núcleo (JÄGER *et al.*, 2009) e microscopia de força atômica (FIEL *et al.*, 2011).

A possibilidade de dispersão do fármaco no núcleo representa uma grande vantagem que leva ao aumento na capacidade de carga de fármacos lipofílicos e à proteção de fármacos contra degradação (MOSQUEIRA *et al.*, 2000; JÄGER *et al.*, 2009; GUTERRES *et al.*, 2010; VENTURINI *et al.*, 2011; DE MARCO, 2009; KÜLKAMP *et al.*, 2009). A presença do núcleo lipídico das nanocápsulas pode também influenciar nas características morfológicas e funcionais (FIEL *et al.*, 2011) e na cinética de liberação *in vitro* (CONTRI *et al.*, 2010). A proporção ótima das

matérias-primas utilizadas, que permite a obtenção exclusiva de nanocápsulas de núcleo lipídico nas suspensões foi determinada como sendo 1:4,1:2,6 para monoestearato de sorbitano, triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico e polímero, respectivamente (VENTURINI *et al.*, 2011).

O monoestearato de sorbitano é um tensoativo não-iônico biodegradável derivado de um ácido graxo natural. Este componente lipofílico sólido é comumente utilizado em suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico combinado a componentes lipofílicos líquidos, como triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico (JÄGER *et al.*, 2007; CATTANI *et al.*, 2010; KÜLKAMP *et al.*, 2011), óleo mineral (POHLMANN *et al.*, 2002; DE MELO *et al.*, 2011) e metoxicinamto de octila, filtro químico altamente lipofílico, normalmente utilizado na preparação de nanocápsulas como ativo cosmético e como componente estrutural dos colóides (WEISS-ANGELI, 2008; DE MARCO, 2009).

3.4 NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS

As nanopartículas lipídicas com matriz lipídica sólida, denominadas nanopartículas lipídicas sólidas são originadas de emulsões o/a com substituição apenas do lipídeo líquido pelo sólido. Atualmente, foram desenvolvidos os nanocarreadores lipídicos nanoestruturados, os quais assim como nas nanopartículas lipídicas sólidas são compostos de uma matriz lipídica sólida, a qual se diferencia pela presença de um lipídeo líquido misturado com o lipídeo sólido.

O palmitato de cetila é bastante utilizado na preparação de nanopartículas lipídicas sólidas, podendo estar ou não associado ao colesterol, outro lipídeo também muito utilizado para compor este tipo de nanopartículas (MEHNERT *et al.*, 2001; ASASUTJARIT *et al.*, 2007). O ácido esteárico, assim como o palmitato de cetila e o colesterol, também é bastante utilizado na preparação de nanopartículas lipídicas sólidas (HU *et al.*, 2005; SHARMA *et al.*, 2009).

Nos carreadores lipídicos nanoestruturados, o palmitato de cetila é associado a componentes lipofílicos líquidos como triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico (TEERANACHAIDEEKUL *et al.*, 2007; TEERANACHAIDEEKUL *et al.*, 2008; YANG *et*

al., 2010), enquanto que o ácido esteárico é frequentemente associado a componentes lipofílicos líquidos como ácido oléico (HU *et al.*, 2005; YUAN *et al.*, 2007; SHARMA *et al.*, 2009). O monoestearato de sorbitano, além de já fazer parte da composição das nanocápsulas de núcleo lipídico também é utilizado na obtenção de carreadores lipídicos nanoestruturados combinado com o componente lipofílico líquido óleo mineral (ZHANG *et al.*, 2008).

Tendo em vista que as nanocápsulas de núcleo lipídico na maioria das vezes são formadas por monoestearato de sorbitano como componente lipofílico sólido e triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico (JÄGER *et al.*, 2007; CATTANI *et al.*, 2010; KÜLKAMP *et al.*, 2011), óleo mineral (POHLMANN *et al.*, 2002; DE MELO *et al.*, 2011) e metoxicinamato de octila (WEISS-ANGELI, 2008; DE MARCO, 2009) como componentes lipofílicos líquidos, é interessante avaliar a possibilidade de utilização de diferentes componentes lipofílicos na formação destas nanocápsulas, bem como a influência destas alterações em fatores como aspecto visual, pH, viscosidade da fase orgânica, estabilidade física, distribuição de tamanho e polidispersão, diâmetro das partículas, potencial zeta e perfil de liberação *in vitro*. Considerando o exposto, este trabalho objetivou desenvolver e caracterizar novas combinações lipofílicas para composição do núcleo lipídico das nanocápsulas, e a partir destas desenvolver uma abordagem de rastreamento de nanocápsulas de núcleo lipídico por perfil gráfico. Para tal, foram selecionados componentes lipofílicos utilizados na preparação de nanopartículas lipídicas sólidas e carreadores lipídicos nanoestruturados.