

DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS LIPOSSOMAIS DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES LIPÍDICAS CONTENDO ÁCIDO P-CUMÁRICO.

Danielle Devequi Gomes Nunes¹; Larissa Moraes dos Santos Fonseca²; Fabricia Oliveira Oliveira³; Katharine Valéria Saraiva Hodel⁴; Gabriele de Abreu Barreto⁵; Tatiara Lima Régis da Silva⁶; Bruna Aparecida Souza Machado⁷

¹ Mestre em Patologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; danielle.nunes@fbter.org.br

² Mestre em Microbiologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; larissa.fonseca@fbter.org.br

³ Mestre em Biotecnologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; fabricia.oliveira@fbter.org.br

⁴ Mestranda em Farmácia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; katharine.hodel@fbter.org.br

⁵ Mestre em Alimentos; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; gabriele.barreto@fieb.org.br

⁶ Doutoranda em Modelagem Computacional; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; tatiararegis@gmail.com

⁷ Doutora em Biotecnologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; brunam@fieb.org.br

RESUMO

Os lipossomas podem encapsular compostos bioativos melhorando a biodisponibilidade e delivery dos mesmos. O objetivo deste trabalho foi o de produzir lipossomas a partir da utilização de óleo vegetais para a encapsulação do ativo ácido p-cumárico por meio da técnica de microfluidização. Assim como, a avaliação da estabilidade das formulações ao longo do tempo quanto ao diâmetro de partícula, índice de polidispersão e pH. Os resultados obtidos apontaram melhores estabilidades para o óleo essencial de uva, em relação aos parâmetros avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: lipossomas; microfluidização; ácido p-cumárico

1. INTRODUÇÃO

Lipossomas são definidos como vesículas esféricas compostas por uma ou diversas bicamadas concêntricas de lipídios capazes de isolar um ou vários compartimentos aquosos internos do meio externo¹. Suas principais vantagens são maior rapidez e facilidade de atingir o alvo aumentando seu potencial terapêutico, grande biocompatibilidade e versatilidade, tamanho, lamelaridade, composição lipídica, volume e composição do meio aquoso interno que podem ser manipulados em função dos requisitos farmacêuticos e farmacológicos. Além disso, são capazes de encapsular substâncias hidrofílicas e/ou lipofílicas. Esses atributos fazem da encapsulação dos compostos bioativos em lipossomas algo promissor e desejável para a indústria farmacêutica².

Um importante diferencial na produção de lipossomas aplicado a formulações farmacêuticas é a microfluidização, uma técnica muito utilizada que tem como função principal a redução do tamanho das partículas por alta pressão e cisalhamento, permitindo a obtenção de nanopartículas ainda menores e, dessa forma, melhorando as características de delivery dos lipossomas³. Diversos estudos comprovam as atividades antissépticas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, anti-úlceras, anticancerígenas e imunomoduladoras, dos ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos e sesquiterpenos⁴. O Ácido p-cumárico, um ácido hidroxicinâmico, é um dos principais ácidos fenólicos encontrados em amostras de própolis verde, um composto de grande interesse para a indústria farmacêutica tendo em vista seus efeitos biológicos *in vitro* e *in vivo* já identificados em alguns estudos⁵.

Visando a necessidade do desenvolvimento de sistemas lipossomais cada vez mais eficazes no *delivery* de fármacos, esse trabalho teve como objetivo produzir lipossomas de diferentes composições e caracterizá-los, quanto ao seu tamanho de partícula, índice polidisperso e pH.

2. METODOLOGIA

A obtenção dos sistemas lipossomais foi realizada baseada no método de hidratação de filme lipídico. Foram desenvolvidas 4 formulações, compostas da fosfatidilcolina de soja, óleo essencial da semente de uva (L1 e L1 branco) e óleo semente de abacate (L2 e L2 branco). Duas formulações encapsulando o princípio ativo ácido p-cumárico (L1 e L2) e duas formulações sem a molécula ativa (L1 branco e L2 branco). As amostras foram armazenadas à 4° C até o momento da análise. A distribuição de tamanho baseado no diâmetro média (d.m) e o índice de polidispersão (PDI) foram obtidos pela técnica de espalhamento de luz dinâmico-DLS. As medições foram realizadas a 25 °C, utilizando 10 µL da amostra diluída em 1mL de água deionizada, disposta na cubeta

DTS 1070 do Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments Zen 3600, Reino Unido). A análise de pH foi realizada utilizando pHmetro da Mettler Toledo, FiveEasy Plus, calibrado com os padrões 4,01 e 7,00

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

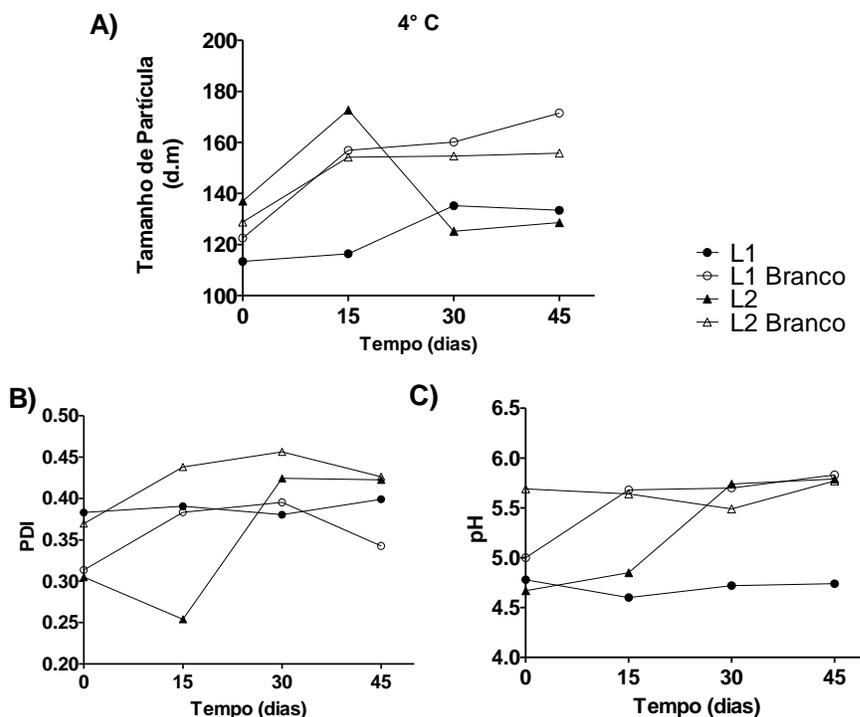
Os lipossomas podem sofrer alterações ao longo do tempo, tais alterações podem ser físicas, químicas e/ou biológicas. Fisicamente, os lipossomas podem sofrer agregação, fusão e ruptura membranar, dependendo da constituição lipídica, bem como do meio envolvente. Quimicamente, sabe-se que os fosfolipídios que constituem os lipossomas podem sofrer hidrólise ou oxidação, tais processos de degradação.

De acordo com os resultados (Figura 1A), é possível notar que a formulação L2 apresentou variação de 137 a 128,6 nm, sendo a formulação mais instável ao longo dos 45 dias. O aumento deste parâmetro sugere possível agregação das partículas, assim como a diminuição sugere a ruptura das mesmas. A formulação L1 e L1 branco, composta por soja e óleo essencial de uva, apresentaram um aumento de tamanho de partícula relevante nos primeiros 15 dias, e então apresentaram estabilidade até os 45 dias de avaliação, com médias entre 113,4 a 133,4 nm e 122 a 171 nm, respectivamente. O tamanho de partícula dos lipossomas é uma propriedade que afeta sua meia-vida ou vida de prateleira, alterando as propriedades como: volume, desempenho, processabilidade, estabilidade e conseqüentemente a aparência final, sabendo que quanto menor o tamanho da partícula, maior a proporção entre superfície e volume que eles terão⁶.

Na figura 1B, observamos o resultado do índice de polidispersão (PDI), que se refere ao grau de espalhamento e distribuição em relação ao tamanho de partícula. O resultado acorda com o anterior, mostrando que as formulações L2 e L2 Branco foram mais instáveis ao longo dos 45 dias, apresentando variação de 0,3 a 0,42 e 0,36 a 0,42, respectivamente.

Podemos perceber na figura 1C, que as formulações L1 e L1 Branco não apresentaram grandes variações de pH, mantendo os valores de 4,7 e $5 \pm 0,5$, respectivamente. O monitoramento do valor de pH é importante para determinar a estabilidade dos lipossomas, já que as alterações de pH indicam a ocorrência de reações químicas que possam comprometer a qualidade do produto final. Todos os resultados corroboram entre si e demonstram que as formulações L2 e L2 branco apresentaram maior instabilidade ao longo dos 45 dias. Os resultados ressaltam que as diferentes composições alteram diretamente as características do lipossoma, conseqüentemente afetando a sua estabilidade e assim sua possível aplicação farmacológica.

Figura 1. Tamanho de partícula (A), índice de polidispersão (B) e pH (C) das formulações em função do tempo de estocagem na temperatura de 4° C.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de lipossomas abre grandes perspectivas para o tratamento de diversas patologias, diante da possibilidade de encapsulação de fármacos e princípios ativos, permitindo uma maior eficácia nos tratamentos, contribuindo para a redução da toxicidade e dessa forma a dosagem dos medicamentos. O Ácido p-cumárico, é um princípio ativos encontrado na composição da própolis e possui propriedades benéficas já bem descritas na literatura, até hoje, nenhuma associação da estabilidade de lipossomas a essas substâncias ativas chegou a ser estudada. Os resultados obtidos demonstraram que é possível a formação de lipossomas utilizando óleos naturais, o que abre perspectivas frente aos óleos sintéticos. É importante concluir que o óleo essencial de uva, formulações L1 e L1 Branco, apresentou melhor desempenho quanto aos parâmetros avaliados.

Os parâmetros analisados são essenciais para a utilização destas formulações no âmbito farmacológico e terapêutico, uma vez que se faz possível a manipulação dos mesmos, adequando os lipossomas ao fármaco ou princípio ativo de interesse, modificando seu perfil de delivery, alterando suas características de acordo com a necessidade terapêutica.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à FAPESB, ao SENAI CIMATEC e a toda equipe do Laboratório de Formulações Farmacêuticas.

5. REFERÊNCIAS

- ¹FRÉZARD, F. *et al.* Lipossomas: Propriedades Físico-Químicas E Farmacológicas, Aplicações Na Quimioterapia À Base De Antimônio. **Quim. Nova**, 2005. v. 28, n. 3, p. 511–518.
- ²MOZAFARI, M. R. *et al.* Encapsulation of Food Ingredients Using Nanoliposome Technology. **International Journal of Food Properties**, 2008. v. 11, n. 4, p. 833–844.
- ³ESPINOSA-ANDREWS, H. *et al.* Development of curcuminoids oil nanoemulsions produced by high-energy methods: Microfluidization vs ultrasonication. **TechConnect Briefs 2018 - Advanced Materials**, 2018. v. 3, p. 5-7.
- ⁴BANKOVA, V. *et al.* Chemical Composition and Antibacterial Activity of Brazilian Propolis. **Z. Naturforsch.** 50c, 1995.
- ⁵KIANMEHR, Z. *et al.* Low-level laser irradiation potentiates anticancer activity of p-coumaric acid against human malignant melanoma cells. **Melanoma Research**, 2019. v.30, n. 2, p. 136-146.
- ⁶DANAEI, Marzieh. *et al.* Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, pii: E57, may 2018.