

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS CONTENDO ANTIOXIDANTE

NATHANA JAMILLE MEZZOMO¹; ANA PAULA TASQUETTO DA SILVA²; SOLANGE CRISTINA DA SILVA MARTINS HOELZEL²; LIANA DA SILVA FERNANDES²; VIRGINIA CIELO RECH³

¹Centro Universitário Franciscano – nathanajamillemezzomo@gmail.com

²Centro Universitário Franciscano

³Centro Universitário Franciscano – vga.cielo@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A nanociência e nanotecnologia envolvem o estudo e trabalho com a matéria em escala ultrapequena. Os sistemas de nanopartículas têm um tamanho que varia de alguns nanômetros até várias centenas de nanômetros (BOISSEAU; LOUBATON, 2011). O desenvolvimento de sistemas de nanopartículas capazes de alterar os perfis biológicos dos ativos é de extrema importância sendo estratégia promissora no desenvolvimento de transportadores coloidais que podem carregar fármacos e liberá-los em locais específicos (TESKAC; KRISTL, 2010).

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) foram desenvolvidas na década de 1990 como um sistema de entrega de fármacos alternativo. São partículas esféricas com um núcleo lipídico sólido que é estabilizado por surfactantes (NABI-MEIBODI et al., 2013) que ganharam interesse crescente para formulações dermatológicas na entrega de fármacos, devido seu pequeno tamanho, biocompatibilidade e a capacidade de incorporar tanto fármacos lipofílicos quanto hidrofílicos com propriedades de liberação controlada (KHURANA; BEDI; JAIN, 2013). São promissoras para aplicações cosméticas, pois são capazes de melhorar a estabilidade química de compostos sensíveis à luz, oxidação e hidrólise (PARDEIKE; HOMMOSS; MÜLLER, 2009).

Durante as últimas décadas percebe-se um enorme interesse no polifenol resveratrol (RSV), para sua aplicação tanto em suplementos alimentares como em constituinte ativo de medicamentos e preparações cosméticas (KASIOTIS, 2013). Esse polifenol está atualmente no centro das atenções em todo o mundo devido aos seus efeitos benéficos sobre o corpo humano como proteção em muitas doenças em virtude da sua atividade antioxidante (GÜLÇIN, 2009; VANAJA; WAHL; BUKARICA; HEINLE, 2013). O RSV é encontrado em produtos derivados de plantas, como por exemplo, a casca de uva, no entanto, seu efeito protetor é mínimo em seres humanos, devido principalmente à sua farmacocinética e tempo de meia vida curta no plasma (8-14 min), além da fraca solubilidade em água (<1 µM) (VANAJA; WAHL; BUKARICA; HEINLE, 2013). Além disso, apresenta sensibilidade a agentes externos, tais como ar, luz, e enzimas oxidativas que podem constituir um problema sério para a sua biodisponibilidade, formulação e manipulação (LUCAS-ABELLÁN et al., 2007).

As NLS contendo RSV têm grande potencial para novos estudos por causa de seu tamanho, núcleo hidrofóbico com periferia hidrofílica e biocompatibilidade (TESKA; KRISTL, 2010). Para contornar as limitações de baixa solubilidade e biodisponibilidade desse antioxidante, as NLS foram propostas como veículo de entrega do RSV, fazendo a avaliação do diâmetro médio de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, pH e estabilidade desse sistema, com a finalidade de uma possível aplicação em produtos cosméticos.

2. METODOLOGIA

As NLS contendo RSV foram preparadas conforme o método de RAFFIN et al. (2012), utilizando um misturador de alto cisalhamento (Ultraturrax®). A fase lipídica foi composta de manteiga de karité (5g), monooleato de sorbitano (2g), antioxidante (Tinogard TT) (0,1g) e RSV (0,3g). A fase aquosa foi composta de polissorbato 80 (3g) e água MilliQ® (qsp 100 mL). Ambas fases foram aquecidas a 40 °C sob agitação constante, até que todos os componentes foram fundidos. Em seguida, a fase aquosa foi vertida sobre a fase lipídica. A suspensão foi submetida à agitação no Ultraturrax® a 20.000 rpm, durante 20 min e, finalmente, as NLS contendo RSV foram obtidas.

A determinação do pH das NLS foi realizada em potenciômetro Digimed® previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. As determinações do diâmetro médio e potencial zeta foram realizadas pelo equipamento Zetasizer®, Nano-ZS da Malvern com diluição de 1250 vezes (v:v) em água MilliQ® e diluição de 1250 vezes (v:v) em cloreto de sódio 10 mM, respectivamente. Os resultados foram expressos em milivolts (mV) a partir de uma média de três determinações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fatores combinados como composição, método de preparação e as condições de armazenamento podem afetar a estabilidade dos sistemas nanoencapsulados (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010), assim como as propriedades físico-químicas da NLS, tais como o diâmetro médio da partícula, índice de polidistribuição (IPD) e potencial zeta, também dependem da estrutura química do surfactante não-iônico (CHOI; ADITYA; KO, 2014). Assim, a estabilidade é um pré-requisito para utilizar NLS como uma formulação para a introdução no mercado farmacêutico (RADOMSKA-SOUKHAREV, 2007).

Na Tabela 1 estão dispostos os valores da caracterização das NLS contendo RSV, com valores de pH, diâmetro médio de partícula, IPD e potencial zeta com avaliação em tempo inicial (0), 15 e 21 dias em temperaturas diferentes de armazenamento.

Tabela 1 – Valores da Caracterização das NLS contendo RSV no Período de 21 dias.

Dias	Temperatura (°C)	pH	Diâmetro médio de partícula (nm)	IPD	Potencial Zeta (mV)
0	25 ± 2	5,41	147,2	0,102	-11,3
	5 ± 2	5,76	147,2	0,099	-12,1
15	25 ± 2	6,05	162,0	0,086	-8,87
	37 ± 2	5,61	691,0	0,660	-19,7
21	5 ± 2	5,86	149,7	0,109	-11,9
	25 ± 2	5,99	167,0	0,084	-9,72
	37 ± 2	5,46	966,3	0,450	-13,4

4. CONCLUSÕES

O valor de pH encontrado inicialmente de 5,41 é compatível com a pele humana, uma vez que esse local apresenta pH levemente ácido, em torno de 5,5 atuando contra bactérias e fungos, característica de suma importância para formulações de uso tópico

(LEONARDI; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2002). Esses valores se mantiveram relativamente estáveis durante 21 dias (Tabela 1), considerando a faixa específica de pH entre 3 e 10, descrita por LEONARDI et al., (2002), para formulações de uso tópico, e por ser considerado um parâmetro que determina a estabilidade e propriedades de liberação de NLS (CHOI; ADITYA; KO, 2014).

Os valores de diâmetro médio da partícula em até 21 dias são satisfatórios (Tabela 1), uma vez que o tamanho médio considerado para NLS de acordo com PARDEIKE et al. (2009), varia cerca de 40 a 1000 nm. O IPD inicial está dentro dos parâmetros sugeridos por SOARES (2013) onde considera valores abaixo de 0,2 uma amostra com boa distribuição das partículas. Todavia, valores altos de IPD encontrados em 15 e 21 dias em temperatura de 37 ± 2 °C podem ser correlacionados com o grande aumento do diâmetro médio de partícula nessa temperatura, provavelmente ocasionado por agregação, segundo esse mesmo autor. Uma população de partículas lipídicas pode aumentar significativamente seu tamanho em alta temperatura devido à agregação induzida por cristalização de gordura. Partículas de lipídeos tendem a agregar umas com as outras quando a fase lipídica cristaliza e, em seguida, se unem quando a amostra é aquecida acima do ponto de fusão (QIAN et al., 2013).

Os valores de potencial zeta estão de acordo com a literatura, uma vez que se pode afirmar que valores entre -30mV e 60 mV são considerados estáveis, evitando agregação das partículas (KHURANA; BEDI; JAIN, 2013). Dessa forma, os resultados referentes a esse parâmetro, mostrados na Tabela 1, mostraram-se estáveis dentro de 21 dias.

Os valores encontrados nesse trabalho tornam-se aceitáveis em temperatura de armazenamento de 5 ± 2 °C e 25 ± 2 °C, pois possuem melhor estabilidade no que se diz respeito principalmente ao diâmetro médio da partícula e PDI. A desestabilização de partículas lipídicas, como mostrado em temperatura de 37 ± 2 °C podem afetar a liberação de fármacos incorporados a NLS, podendo ser difundido para fora do veículo lipídico, durante o processo de desestabilização tais como floculação, coalescência, desnaturação (CHOI; ADITYA; KO, 2014).

Assim, as NLS carregadas de RSV como antioxidante podem ser sugeridas como sistemas de transporte dérmico considerando apenas as temperaturas de armazenamento 5 ± 2 °C e 25 ± 2 °C. Porém com seu reduzido tamanho que assegura um contato mais próximo do estrato córneo, as NLS podem aumentar a quantidade de RSV que penetra na pele, melhorar sua estabilidade química e biodisponibilidade de compostos sensíveis à luz, oxidação e hidrólise, como é o caso do RSV. Mas, claramente é necessário mais estudos tanto *in vitro* quanto *ex vivo* para um progresso clínico humano para aplicação na área cosmética.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOISSEAU, P.; LOUBATON, B. Nanoscience and nanotechnologies: hopes and concerns. *Nanomedicine, nanotechnology in medicine. Comptes Rendus Physique.* v.12, p. 620–636, 2011.

CHOI, K.; ADITYA, N.P.; KO, S. Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. *Food Chemistry.* v.147, 239–244, 2014.

GÜLÇİN, I. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* v.11, p. 210–218, 2010.

KASIOTIS, K. M.; PRATSINIS, H.; KLETSAS, D.; HAROUTOUNIAN, S. A. Resveratrol and related stilbenes: Their anti-aging and anti-angiogenic properties. **Food and Chemical Toxicology**. Article In Press, 2013.

KHURANA, S.; BEDI, P.M.S.; JAIN, N. K. Preparation and evaluation of solid lipid nanoparticles based nanogel for dermal delivery of meloxicam. **Chemistry and Physics of Lipids**. v. 175– 176, p. 65– 72, 2013.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.77, n.5, p.563-569, set./out.2002.

LUCAS-ABELLÁN, C.; FORTEA, I.; LÓPEZ-NICOLÁS, J. M.; NÚÑEZ-DELICADO, E. Cyclodextrins as resveratrol carrier system. **Food Chemistry**. v.104, p. 39–44, 2007.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.385, p.113–142, 2010.

NABI-MEIBODI, N.; VATANARA, A.; NAJAFABADI, A. R.; ROUINI, M. R.; RAMEZANI, V.; GILANI, K.; ETEMADZADEH, S. M. H.; AZADMANESH, K. The effective encapsulation of a hydrophobic lipid-insoluble drug in solid lipid nanoparticles using a modified double emulsion solvent evaporation method. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v.112, p. 408–414, 2013.

PARDEIKE, J.; HOMMOSS, A.; MÜLLER, R. H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 366, p. 170–184, 2009.

QIAN, C.; DECKER, E. A.; XIAO, H.; McCLEMENTS, D. J. Impact of lipid nanoparticle physical state on particle aggregation and β -carotene degradation: Potential limitations of solid lipid nanoparticles. **Food Research International**. v. 52, p. 342–349, 2013.

RADOMSKA-SOUKHAREV.; A. Stability of lipid excipients in solid lipid nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v.59, p. 411–418, 2007.

RAFFIN, R.P.; LIMA, A.; LORENZONI, R.; ANTONOW, M. B.; TURRA, C.; ALVES, M. P.; FAGAN, S. B. Natural Lipid Nanoparticles Containing Nimesulide: Synthesis, Characterization and in vivo Antiedematogenic and Antinociceptive Activities. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. v. 8, p. 1–7, 2012.

SOARES, S.; FONTE, P.; COSTA, A.; ANDRADE, J.; SEABRA, V.; FERREIRA, D.; REIS, S.; SARMENTO, B. Effect of freeze-drying, cryoprotectants and storage conditions on the stability of secondary structure of insulin-loaded solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**. v.456 p. 370– 381, 2013.

TESKA, K.; KRISTL, J. The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 390, p. 61–69, 2010.

VANAJA, K.; WAHL, M. A.; BUKARICA, L.; HEINLE, H. Liposomes as carriers of the lipid soluble antioxidant resveratrol: Evaluation of amelioration of oxidative stress by additional antioxidant vitamin. **Life Sciences**. v. 93, p.917–923, 2013.