DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULA POLIMÉRICA CONTENDO LICOPENO

Mariana Dutra [1]

Luiz Torres Neto [2]

Gabriel Pedroso Viçozzi [3]

Riciele Moreira de Morais [4]

Letícia Marques Colomé [5]

Eduardo André Bender [6]

Resumo:

O câncer é definido como um conjunto de doenças provenientes de mutações genéticas. Os fatores que levam ao desenvolvimento desta patologia podem ser de origem interna ou externa.O licopeno é um carotenóide que possui efeito protetor direto contra radicais livres, o que justifica o seu reconhecimento como um potencial antioxidante, anticancerígeno e antiaterogênico. Apesar de seus benefícios a saúde, o licopeno apresenta grandes desafios para a utilidade clínica como a sua baixa solubilidade e biodisponibilidade. Diante disso, a encapsulação em nanopartículas se torna interessante. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar nanoesferas de licopeno considerando seu potencial para o tratamento de diferentes tipos de câncer. A suspensão de nanoesferas de licopeno (NEL) foram preparadas utilizando o método denominado deposição interfacial do polímero pré-formado por Fessi et al., (1989), com adaptações. A fase orgânica foi composta por poli(-caprolactona) (PCL), tensoativo de baixo EHL monoestearato de sorbitano (Span 60), formulação sólida de licopeno (10%) e acetona. Os componentes foram aquecidos a 40 °C para completa dissolução de todos os componentes. A fase aquosa foi composta por água ultrapura e tensoativo de elevado EHL (polissorbato 80), sendo também mantido em agitação magnética sob as mesmas condições de tempo e temperatura. Posteriormente a fase orgânica foi vertida, lentamente sob agitação moderada, através de um funil na fase aquosa, para formação das nanoesferas, sendo sua agitação mantida por 10 minutos. Por fim, a solução foi concentrada a um volume final de 10 mL em evaporador rotatório, para eliminação do solvente orgânico e parte da água. Posteriormente as suspensões foram armazenadas em frascos âmbar, em temperatura ambiente, protegido da luz. Foram determinados tamanho de partícula, o valor de polidispersão (Span), o diâmetro de partícula, índice de polidispersão (IPD) e o pH. Todos os resultados das análises foram representados pela média de três determinações ± DP. A Nanoesfera de licopeno demonstrou um tamanho de partícula e polidispersão satisfatório, sendo uma possibilidade para veiculação de substâncias com potencial quimiotepêutico como o licopeno. Dessa forma, mais estudos serão realizados relacionados a sua estabilidade, perfil de liberação, bem como testes relativos à citotoxicidade em culturas de células de alguns tipos de câncer.

Palavras-chave: Nanotecnologia, Nanoesferas,Licopeno

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULA POLIMÉRICA CONTENDO LICOPENO

[1] Aluno de graduação. mariana8dutra@gmail.com. Autor principal

[2] Aluno de pós-graduação. torresneto1995@gmail.com. Co-autor

[3] Aluno de pós-graduação. gabrie.vicozzi@gmail.com. Co-autor

[4] Aluna de graduação. ricielemoreira@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. leticiacolome@unipampa.edu.br. Orientador

[6] Docente. eduardobender@unipampa.edu.br. Co-orientador

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTICULA POLIMÉRICA CONTENDO LICOPENO

1 INTRODUÇÃO

O câncer é definido como um conjunto de doenças provenientes de mutações genéticas. Os fatores que levam ao desenvolvimento desta patologia podem ser de origem interna, sendo geneticamente pré-determinadas ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões exteriores, ou de origem externa, relacionadas ao meio ambiente, hábitos e costumes próprios (INCA, 2018).

A estimativa mundial mostra que em 2012, ocorreram 14,1 milhões de casos novos de câncer e 8,2 milhões de óbitos, onde as maiores taxas de incidência foram observadas nos países desenvolvidos como América do Norte, Europa Ocidental, Japão, Coreia do Sul, Austrália e Nova Zelândia. Para o Brasil, estima-se a ocorrência de 600 mil casos novos de câncer para o biênio 2018-2019, sendo os mais incidentes os cânceres de próstata, próstata, pulmão, mama feminina e cólon e reto (FERLAY et al., 2013; INCA, 2018).

Entre os 600 carotenóides naturais já identificados, o licopeno tem o maior potencial para extinguir o oxigênio singleto tendo um efeito protetor direto contra radicais livres, o que justifica o seu reconhecimento como um potencial antioxidante, anticancerígeno e antiaterogênico (LUGASI et al., 2003; JAIN et al., 2018).

Apesar de seus benefícios a saúde, o licopeno apresenta grandes desafios para a utilidade clínica como a sua baixa solubilidade e biodisponibilidade. Além disso, certos distúrbios de saúde demandam altas doses terapêuticas de licopeno e, assim, continuam sendo um desafio para formas de dosagem convencionais (JAIN et al., 2016; JAIN et al., 2018). Dessa forma um sistema de entrega que melhore a biodisponibilidade oral e a eficácia terapêutica do licopeno é de grande importância.

Nanopartículas são sistemas que têm sido amplamente estudados como carreadores de fármacos. Dentre estes sistemas existem as nanoesferas, que são formadas por uma matriz polimérica onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido. Estas estruturas possibilitam a entrega seletiva e controlada de fármacos, o aumento da biodisponibilidade de ativos encapsulados e a redução dos efeitos colaterais (SCHAFFAZICK et al., 2003; LIU et al., 2011).

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar nanoesferas de licopeno considerando seu potencial para o tratamento de diferentes tipos de câncer.

2 METODOLOGIA

2.1 Preparação das nanoesferas

A suspensão de nanoesferas de licopeno (NEL) foram preparadas utilizando o método denominado deposição interfacial do polímero pré-formado por Fessi et al*.,* (1989), com adaptações. A fase orgânica foi composta por poli(ε-caprolactona) (PCL), tensoativo de baixo EHL monoestearato de sorbitano (Span 60), formulação sólida de licopeno (10%) e acetona. Os componentes foram aquecidos a 40 °C para completa dissolução de todos os componentes.

A fase aquosa foi composta por água ultrapura e tensoativo de elevado EHL (polissorbato 80), sendo também mantido em agitação magnética sob as mesmas condições de tempo e temperatura. Posteriormente a fase orgânica foi vertida, lentamente sob agitação moderada, através de um funil na fase aquosa, para formação das nanoesferas, sendo sua agitação mantida por 10 minutos. Por fim, a solução foi concentrada a um volume final de 10 mL em evaporador rotatório, para eliminação do solvente orgânico e parte da água. Posteriormente as suspensões foram armazenadas em frascos âmbar, em temperatura ambiente, protegido da luz.

2.2 Caracterização da suspensão das nanoesferas

O tamanho de partícula foi avaliado pela técnica de difratometria de laser (DL) utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments). Os dados de difração de laser obtidos foram avaliados utilizando o valor $D_{[4,3]}$, junto dos valores de $d_{(0,1)}$, $d_{(0,5)}$ e $d_{(0,9)}$ da distribuição. O valor de polidispersão (Span), também foi utilizado para a caracterização das formulações.

O diâmetro de partícula e o índice de polidispersão (IPD) foi obtido por espalhamento dinâmico de luz (DLS), medido a 25ºC utilizando o equipamento NanoBrook 90Plus Zeta® (Brookhaven Instruments Corportation, USA).

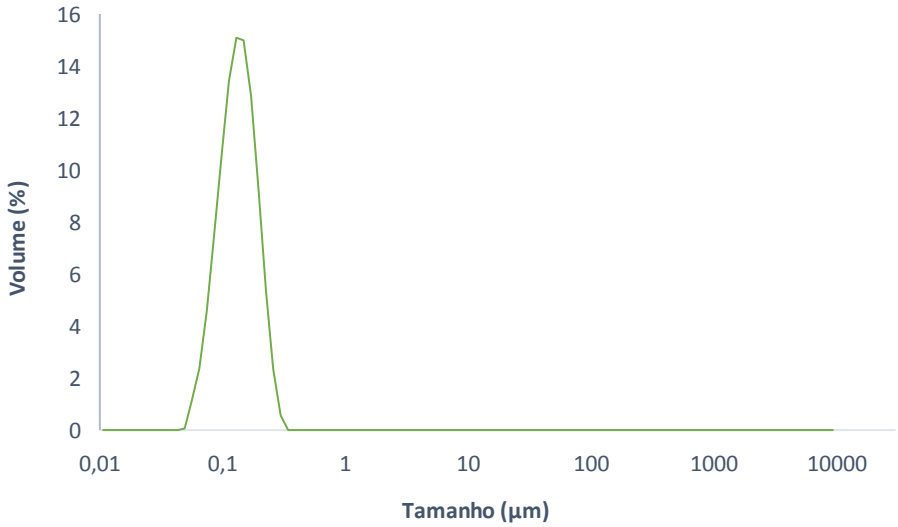
A determinação de pH foi realizada com potenciômetro (Hanna®) calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0 diretamente nas formulações de nanocápsulas. Todos os resultados das análises foram representados pela média de três determinações ± DP.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A difratometria a laser se baseia na difração da luz pela partícula dispersa em um líquido. Os dados são obtidos e analisados usando as teorias de difração de Fraunhofer ou de Mie. Este método fornece dados úteis como a distribuição do tamanho das partículas, o volume e o diâmetro médio da superfície. Neste trabalho, este método foi usado para verificar se a formulação apresentava tamanhos de partículas na escala nanométrica, visto que é adequado para partículas com diâmetros maiores que 1 µm (LANGE et al., 1995; WITT et al., 1996).

Na figura 1 é demonstrada a granulometria obtida por difração a laser da suspensão de NEL. Foi observada uma distribuição monomodal, com uma população somente, a qual encontrava-se dentro da escala nanométrica.

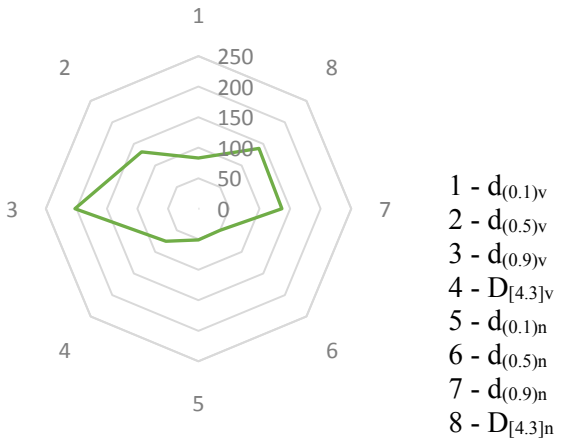
Figura 1. Granulometria da suspensão de nanoesferasdeterminada por Difratometria a laser (DL).



Fonte: do autor, 2018.

Outra representação que possibilita um melhor aproveitamento dos dados obtidos por DL é o gráfico radar, sendo uma abordagem apresentada por Bianchin et al., (2015) (Figura 2). Este gráfico considera as diferentes variáveis determinadas por DL, onde os eixos 1 a 4 correspondem aos dados relacionados ao volume das partículas: $d_{(0.1)v}$, $d_{(0.5)v}$, $d_{(0.9)v}$, e $D_{[4,3]v}$ enquanto os eixos 5 a 8 correspondem aos dados com base no número de partículas: $d_{(0.1)n}$, $d_{(0.5)n}$, $d_{(0,9)n}$ e $D_{[4,3]n}$.

Figura 2. Gráfico radar da população da NEL por DL.



Fonte: do autor, 2018.

A distribuição do tamanho de partícula pode ser calculada com base em dois modelos: distribuição pelo número ou distribuição pelo volume das partículas, os quais são utilizados na estruturação do gráfico radar. A distribuição numérica atribui um valor de tamanho a cada partícula "inspecionada", onde cada partícula tem ponderação igual quando a distribuição final é calculada. Ao contrário, na avaliação por volume, a distribuição das partículas tende ao maior "espaço ocupado". Apesar de possuírem a base do cálculo diferente, nada muda entre as representações (HORIBA, 2017). Considerando o presente trabalho, a suspensão nessa abordagem apresentou uma distribuição unimodal, mostrando certo grau de polidispersividade, o que justifica o formato assimétrico do gráfico, sendo este resultado esperado para sistemas carreadores nanométricos produzidos experimentalmente (BIANCHIN et al., 2015). O Span obtido por DL apresentou um valor de 1,361 ± 0,65, mostrando ser uma suspensão de distribuição de tamanho estreita (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de Diâmetro de partícula e IPD (ELD), Span (DL) e pH.

	Diâmetro médio (nm)	IPD	Span	pH
NEL	186,45 ± 8,3	0,092 ± 0,01	1,361 ± 0,65	6,36 ± 0,06

Fonte: do autor, 2018.

O espalhamento dinâmico de luz (ELD) é um método específico para partículas nanométricas, pois se baseia no movimento Browniano destas, assim sendo um método complementar a DL na análise de suspensões de nanopartículas. O diâmetro médio encontrado por esta técnica foi de 186,45 ± 8,3 com um índice de polidispersão (IPD) de 0,092 ± 0,01, podendo-se concluir que a suspenção de NEL é homogênea e monidispersa, corroborando com os dados encontrados anteriormente por DL.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A NEL demonstrou um tamanho de partícula e polidispersão satisfatório, sendo u ma possibilidade para veiculação de substâncias com potencial quimiotepêutico como o licopeno. Dessa forma, mais estudos serão realizados relacionados a sua estabilidade, perfil de liberação, bem como testes relativos à citotoxicidade em culturas de células de alguns tipos de câncer.

REFERÊNCIAS

BIANCHIN, M. D.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; OLIVEIRA, C. P.; CONTRI, R. V.;

SÍLVIA S. GUTERRES S. S.; POHLMANN, A. R. Radar charts based on particle sizing as an approach to establish the fingerprints of polymeric nanoparticles in aqueous formulations. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 30 , p. 180-189, 2015.

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S.; MATHERS, C.; REBELO, M.; PARKIN, D. M.; FORMAN, D.; BRAY, F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal Of Câncer**, v. 136, p. 86-359, 2015.

FESSI, H.; DEVISSAGUET, J; PUISIEUX, F. Procédé de préparation dês systémes colloidaux dispersibles d'une substance sous forme de nanocapsules. **European Patent**, 0274961 A1, 1989.

INCA – Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018 – Incidência de Câncer no Brasil. In: INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2018. Rio de Janeiro, RJ, BR: INCA, 2018 Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/index.asp>. Acesso em: 6 set. 2018.

JAIN, A.; SHARMA, G.; GHOSHAL, G.; KESHARWANI, P.; BHUPINDER SINGH, B.; SHIVHARE, U. S.; KATARE, O. P. Lycopene loaded whey protein isolate nanoparticles: An innovative endeavor for enhanced bioavailability of lycopene and anti-cancer activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, p. 97-105, 2018.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O.P.; SINGH, B.; SHIVHARE, U.S. Formation and functional attributes of electrostatic complexes involving casein and anionic polysaccharides: An approach to enhance oral absorption of lycopene in rats in vivo. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 746–756, 2016.

LANGE, H. Comparative Test of Methods to Determine Particle Size and Particle Size Distribution in the Submicron Range. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 12, p. 148-147, 1995.

LIU, Y.; ZHANG, B.; YAN, B. Enabling Anticancer Therapeutics by Nanoparticle Carriers: The Delivery of Paclitaxel. **International Journal of Molecular Science**, v. 12, p. 4395-4413, 2011.

LUGASI, A.; HOVARIE, J.; BIRO, L.; BRANDT, S.; HELYES L. Factors influencing lycopene content of foods, and lycopene of Hungarian population. **Nutrition Research**, v. 23, p. 1035-44, 2003.

LUGASI, A.; HOVARIE, J.; BIRO, L.; BRANDT, S.; HELYES, L. Factors influencing lycopene content of foods, and lycopene of Hungarian population. **Nutrition Research**, v. 23, p.1035-44, 2003.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

WITT, W.; ROTHELE, S. Laser diffraction unlimited? **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 13, p. 280–286, 1996.