HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE 3,3`-DIINDOLMETANO: AVALIAÇÃO DA REOLOGIA E PERFIL DE PERMEAÇÃO IN VITRO

Bárbara Felin Osmari [1]

Laura Giuliani [2]

Jéssica Brandão Reolon [3]

Letícia Cruz [4]

Resumo:

O 3,3`-diindolmetano (DIM) é um bioativo que vem demonstrando diversos efeitos benéficos, contudo este composto apresenta baixa solubilidade aquosa e também é instável frente à luz e temperaturas elevadas. Desta forma, uma alternativa para contornar essas limitações é a sua incorporação em sistemas nanoestruturados, tais como as nanocápsulas (NCs). Estas estruturas, são constituídas por um núcleo oleoso envolto por uma parede polimérica. No entanto, as NCs são obtidas sob a forma de uma suspensão aquosa líquida, dificultando sua aplicação sobre a pele. Diante disso, uma alternativa é a incorporação destes sistemas em formulações semissólidas, como os hidrogéis (HGs), uma vez que tais sistemas associados a HGs podem modular a permeação/retenção/liberação cutânea de compostos ativos e, ainda, modificar o perfil de liberação do mesmo, favorecendo um efeito mais prolongado. A goma de alfarroba (GA) é um polissacarídeo obtido da semente da alfarrobeira e possui propriedades espessantes, estabilizantes e gelificantes, além de ser biocompatível e não-tóxica. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento reológico e avaliar o perfil de permeação em pele humana de HGs de GA contendo NCs de DIM. As suspensões de NCs foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado e os HGs foram obtidos utilizando a GA na concentração de 3%, que foi adicionada às suspensões de NCs. O comportamento reológico foi avaliado empregando um viscosímetro rotacional, e a permeação foi realizada utilizando células de difusão do tipo Franz, empregando pele humana como membrana (CAAE: 55220016.3.0000.5346; Número do parecer: 1.632.595). A reologia, demostrou que a viscosidade dos HGs diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, demonstrando fluxo não-Newtoniano, uma vez que a viscosidade não é constante. O comportamento dos HGs foi obtido através de modelagem matemática, a qual constatou que as formulações seguem o modelo de Ostwald. A avalição da permeação cutânea mostrou que os sistemas nanoestruturados foram eficientes para controlar a liberação do ativo nas camadas da pele, além de minimizar a chegada do DIM na derme. Assim, nanoencapsulação demonstrou-se vantajosa, pois foi capaz de controlar a liberação do ativo na pele e, ainda, os hidrogéis apresentaram comportamento reológico adequado para aplicação tópica.

Palavras-chave: 3,3`-diindolmetano, nanopartículas, hidrogel, permeação cutânea

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE 3,3`-DIINDOLMETANO: AVALIAÇÃO DA REOLOGIA E PERFIL DE PERMEAÇÃO IN VITRO

[1] Aluno de graduação. barbaraosmari2@gmail.com. Autor principal

[2] Aluna de pós-graduação . laura.mgiuliani@gmail.com. Co-autor

[3] Aluna de pós-graduação . jessica_breolon@yahoo.com.br. Co-autor

[4] Docente. leli.cs@gmail.com. Orientador

HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE 3,3`-DIINDOLMETANO: AVALIAÇÃO DA REOLOGIA E PERFIL DE PERMEAÇÃO *IN VITRO* UTILIZANDO PELE HUMANA

1 INTRODUÇÃO

O 3,3`-diindolmetano (DIM) é um composto fitoquímico originado a partir de reações de dimerização do indol-3-carbinol presente em vegetais crucíferos (gênero *Brassica*) (BANERJEE et al., 2011). O DIM tem demonstrado diversos efeitos benéficos, como redução do estresse oxidativo e da inflamação além de inibir a invasão de células neoplásicas (BENABADJI et al., 2004). Apesar das potencialidades do DIM, este bioativo apresenta baixa solubilidade aquosa e também é instável frente à luz e temperaturas elevadas (PATEL et al., 2012).

Visando contornar essas limitações, as nanocápsulas poliméricas (NCs) são consideradas sistemas promissores, pois são potencialmente capazes de aumentar a estabilidade de substâncias ativas frente a fatores externos, e ainda podem possibilitar a liberação controlada e aumentar a seletividade de ativos, aumentando assim a sua eficácia (COUVREUR et al., 2002; MORA-HUERTAS et al., 2010). Estas, são caraterizadas por apresentarem tamanho submétricos e são constituídas por um núcleo oleoso envolto por uma matriz polimérica, podendo ser administradas por diferentes vias (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Além disso, o desenvolvimento de NCs visando aplicação cutânea tem despertado interesse no âmbito científico, pois estas podem modular a permeação, a absorção e a retenção dos fármacos (GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007; PROW et al., 2011). Ademais, a aplicação de fármacos sobre a pele apresenta vantagens como a redução de efeitos adversos sistêmicos, evitar o metabolismo de primeira passagem, aplicação direta no local da lesão, além de ser um método não-invasivo (TING; VEST; SONTHEIMER, 2004).

No entanto, as NCs são obtidas sob a forma de suspensão aquosa líquida, dificultando assim sua aplicação e permanência sobre a pele (SCHAFFAZICK et al., 2003). Diante disso, uma alternativa é a incorporação de sistemas nanoestruturados em veículos semissólidos para viabilizar a sua aplicação. Nesse sentido, a utilização de polissacarídeos de origem natural vem ganhando destaque por serem biocompativeis e não tóxicos. A goma de alfarroba (GA) é um polissacarídeo obtido da semente da alfarrobeira e possui propriedades espessantes, estabilizantes e gelificantes (BARAK; MUDAGIL, 2014).

No desenvolvimento de formas farmacêuticas visando a aplicação sobre a pele é importante que se avalie o comportamento reológico das mesmas, pois este pode afetar o desempenho da formulação e também estimar o quanto os componentes da formulação influenciam no fluxo, bem como a espalhabilidade e a aceitabilidade da formulação pelo paciente (LIPPACHER; MÜLLER; MÄDER, 2001). Também é de extrema importância que se tenha um indício da performance destas formulações, quando aplicadas *in vivo*.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento reológico e avaliar o perfil de permeação *in vitro* em pele humana de hidrogéis (HGs) de GA contendo NCs de DIM.

2 METODOLOGIA

As suspensões de NCs foram preparadas em triplicata pelo método de deposição

interfacial do polímero pré-formado. Para obtenção dos HGs foi utilizado a goma de alfarroba na concentração de 3% que foi adicionada às suspensões de NCs e, com o auxílio de um gral e pistilo, ocorreu o espessamento das formulações. Para fins comparativos, foram preparados HGs de NCs omitindo o DIM (HG NC BR) e contendo o DIM na forma livre (HG DIM). Para este último, a água foi adicionada ao invés da suspensão de NCs.

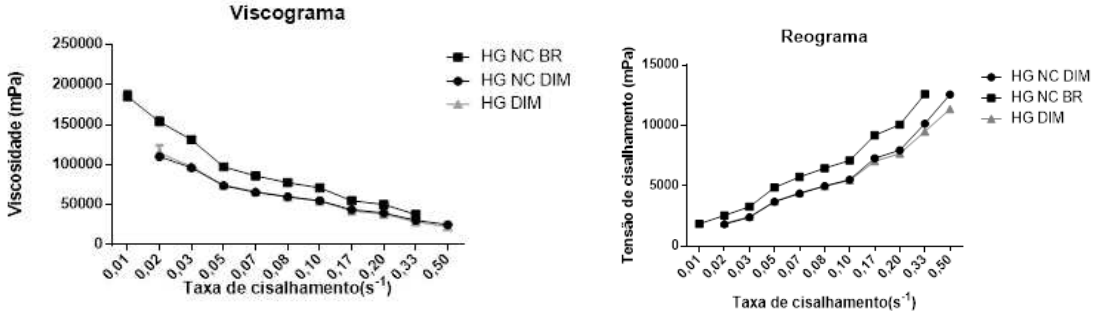
A avaliação reológica foi realizada empregando um viscosímetro rotacional, com spindle RV06. Para esta análise foi utilizado 30g de cada gel que foram submetidos a velocidades de cisalhamento 1, 1,5, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 20 e 30 rpm para os HG NC DIM e HG DIM e 0, 6, 1, 1,5, 3, 4, 5, 6, 10, 12 e 20 rpm para HG NC BR, tais velocidades foram utilizadas pois mantém o torque ideal para que haja confiança na análise (10 – 90%). A avaliação do modelo reológico que melhor descreve o comportamento dos HGs foi feita através de modelagem matemática empregando as equações de Binghan, Casson e Ostwald.

O estudo de permeação cutânea foi realizado utilizando células de difusão do tipo Franz, empregando pele humana como membrana. Recortes circulares de pele, obtidas de descarte de cirurgia de abdominoplastia, foram colocados com o estrato córneo voltado para cima e a derme em direção ao meio receptor composto por tampão fosfato pH 7,4 incubada por 8 horas. Após, a avaliação do conteúdo de DIM retido no estrato córneo foi realizada pela técnica de *tape stripping*. A retenção cutânea (derme/epiderme) do DIM foi analisada após separação da derme e epiderme e extração do ativo em cada porção. Em ambos os casos, o DIM foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme metodologia já validada em nosso grupo de pesquisa. É importante mencionar que esta atividade já foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM (CAAE: 55220016.3.0000.5346; Número do parecer: 1.632.595).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A figura 1 exibe o gráfico do viscograma dos HGs, obtido através da plotagem dos valores de taxa de cisalhamento (s^{-1}) pela viscosidade (mPa.s). Pode-se observar que a viscosidade dos HGs diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, demonstrando fluxo não-Newtoniano, pois a viscosidade não permanece constante (AULTON, 2006), o que também é demonstrado no reograma (taxa de cisalhamento (s^{-1}) x tensão de cisalhamento (mPa).

Figura 1: Representação gráfica do viscograma e reograma dos HGs



Fonte: do autor, 2018.

Para classificar o comportamento apresentado, foi feita a análise através de três modelos reológicos: Bingham, Casson e Ostwald (tabela 1). Assim, pela determinação dos valores do coeficiente de regressão (*r*) através das equações correspondentes a cada um dos modelos analisados, pode-se concluir que todas as formulações seguem o modelo de Ostwald, o qual é caracterizado como pseudoplástico, e não necessita de uma tensão de cisalhamento mínima para fluir (AULTON, 2006). Fluxo não-Newtoniano pseudoplástico é frequentemente obtido em pesquisas na avaliação reológica de géis (CONTRI et al., 2010; CORRÊA, 2005).

Tabela: Coeficiente de regressão (*r*) para os diferentes modelos matemáticos (média ± desvio padrão, n=3).

Formulação	Binghan	Casson	Ostwald
HG NC DIM	0,972 ± 0,004	0,98 ± 0,003	0,999 ± 0,001
HG NC BR	0,964 ± 0,003	0,984 ± 0,001	0,998 ± 0,000
HG DIM	0,960 ± 0,010	0,979 ± 0,009	0,996 ± 0,004

Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 2: Indíce de fluxo (n) e índice de consistência (k) das formulações (média ± desvio padrão, n=3).

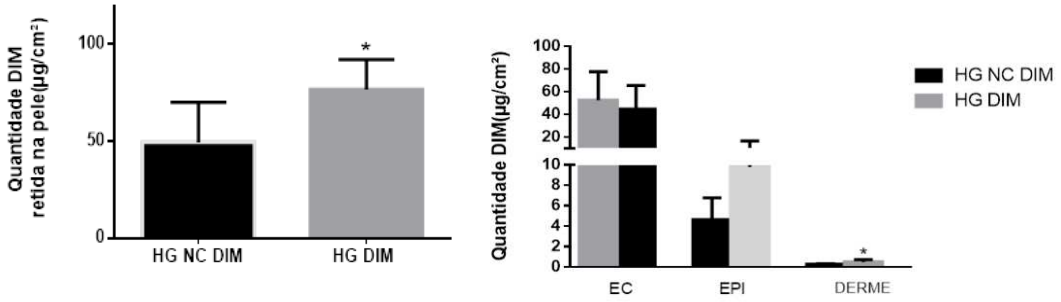
Formulação	n	K
HG NC DIM	0,610 ± 0,004	2024,33 ± 36,87
HG NC BR	0,550 ± 0,011	2588,60 ± 67,45
HG DIM	0,525 ± 0,018	2011,99 ± 133,23

Fonte: elaborada pelo autor

Em relação à avaliação da permeação cutânea, foi demonstrado que a nanoencapsulação foi capaz de controlar a liberação do ativo nas camadas da pele, uma vez que o HG contendo NCs de DIM apresentou menor quantidade liberada, em relação ao HG livre.

Além disso, a nanoencapsulação reduziu a chegada do ativo na derme. Para ambas as formulações, as maiores quantidades de ativo foram encontradas nas camadas mais superficiais da pele, estrato córneo e epiderme, o que é vantajoso para o tratamento local de desordens cutâneas e reduzir a absorção sistêmica.

Figura 2: – Quantidade total retirada de DIM e perfil de permeação, comparando HG NC DIM e HG DIM.



Fonte: do autor, 2018

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os hidrogéis desenvolvidos apresentaram comportamento reológico compatível com a aplicação cutânea, e a nanoencapsulação do ativo mostrou-se eficiente no controle da liberação, uma vez que a quantidade retida de DIM na pele foi menor comparada com o HG contento o ativo na forma não nanoencapsulada.

REFERÊNCIAS

AULTON, M. E., Aulton Delineamento de Formas Farmacêuticas, 4ª Ed., **Elsevier Editora Ltda**, 2016.

BENABADJI, S. H. et al., Anticarcinogenic and antioxidante activity of diindolylmethane derivatives, **Acta Phamacol Sin,** v. 25, n. 5, p. 666-671.

BANERJEE, D. et al., Investigation of the reciprocal relationship between the expression of two gap junction connexin proteins, connexin46 and connexin43, **J. Biol. Chem,** 2011.

BARAK, S.; MUDGIL, D. Locust bean gum: Processing, properties and food applications—A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.55, p. 74-80, 2014.

CONTRI, R. V. et al. Chitosan hydrogel containing capsaicinoids-loaded nanocapsules: An innovative formulation for topical delivery. **Soft Materials**, v. 8, n. 4, p. 370–385, 2010.

CORRÊA, N. M. et al.; Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, 2004.

COUVREUR, P.; BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. **Adv Drug Deliv Rev,** v. 54, n. 5, p. 631-51, 2002.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. **Drug Target Insights**, 2, 147–157, 2007.

LIPPACHER, A.; MÜLLER, R. H.; MÄDER, K. Preparation of semisolid drug carriers for topical application based on solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 214, p. 9-12, 2001.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 385, n. 1-2, p. 113–142, 2010.

PATEL, J. C. et al, Formulation and evaluation of matrix diffusion controlled transdermal drug delivery system of glipizide, **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, v. 2, n. 1, p. 41-48**,** 2012.

PROW, T. W. et al, Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. **Adv Drug Deliv Rev,** v. 63, n. 6, P. 470-91, 2011.

SCHAFFAZICK, S. R.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 726-737, 2003.

TING, W. W.; VEST, C. D.; SONTHEIMER, R. D. Review of traditional and novel modalities that enhance the permeability of local therapeutics across the stratum corneum. **International Journal of Dermatology**, v. 43, p. 538-547, 2004.