

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PLGA PARA VEICULAÇÃO INTRAVENOSA DE PROTEÍNAS

RODRIGUES, M. S.S.³; BRITO, A.E.M¹; MEDEIROS, T.S³; APOLINARIO, A.C²;
RANGEL-YAGUI, C.O.²; PESSOA-JR, A²; SILVA, J.A¹

RESUMO

O desenvolvimento de nanopartículas é considerado atualmente um sistema promissor para o carregamento de drogas em sítios específicos. O uso de polímeros na obtenção desse sistema pode ser de origem natural ou sintética desde que seja biocompatível ou biodegradável. Desenvolver sistemas de transportes para carrear proteínas requer cuidado com variáveis como tempo de homogeneização e concentração do surfactante, que interferem diretamente na obtenção destas. As nanopartículas foram obtidas pelo método de dupla emulsificação, onde foram elaborados 6 sistemas (A,B,C,D,E e F), utilizando diferentes concentrações de PVA (0,5; 1 e 1,5%) e tempo de homogeneização de 30 e 60 segundos. Os sistemas foram analisados pela técnica de espalhamento de luz dinâmico. Os resultados mostraram que o sistema D apresentou melhor IPD com 0,638, com tamanho de partícula de 678,3 nm, o que sugere homogeneidade maior em relação aos outros sistemas. Porém, há a necessidade de se otimizar o método para obtenção de partículas de tamanhos menores para a veiculação intravenosa.

Palavras-chave: Nanopartículas, PLGA, Dupla Emulsificação.

ABSTRACT

The development of nanoparticles is currently considered a promising system for drug entrapment at specific sites. Use of polymers in the obtaining of this system can be of natural or synthetic origin provided it is biocompatible and biodegradable. Developing transport systems for carrying proteins requires careful variables as time of homogenization and concentration of surfactant, which directly interfere in obtaining these. Nanoparticles were obtained by double emulsification method where systems were developed 6 (A, B, C, D, E and F), using different concentrations of PVA (0.5, 1 and 1.5%) and homogenization time 30 and 60 seconds. The systems were analyzed by dynamic light scattering technique. The results showed that the system D showed better IPD to 0,638, with 678.3 nm particle size, which suggests greater homogeneity compared to other systems. However, there is a need to optimize the method for obtaining smaller particle size for intravenous placement.

Keywords: Nanoparticles, PLGA, Double Emulsification.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, fármacos com sistemas de liberação modificada têm tido uso crescente e

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande, PB, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

³ Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

E-mail: alexuepb@yahoo.com.br

relevante na clínica médica. Tal fato se dá à sua característica de reduzir os efeitos indesejáveis do fármaco, aumento da eficácia com diminuição da dose, podendo gerar mais segurança ao paciente e adesão ao tratamento. Estudos vêm sendo realizados nessa área a fim de potencializar as vantagens inerentes a estas formas.

A literatura relata uma ampla variedade de sistemas, visando o direcionamento de fármacos para locais específicos, dentre eles estão incluídos os lipossomas, as bombas osmóticas, os revestimentos entéricos, os sistemas transdérmicos, os pró-fármacos, e as nanopartículas poliméricas (LOPES, *et al*, 2005). Sendo estas últimas, umas das formas mais promissoras para veiculação de fármacos e macromoléculas, como as proteínas. Para sua produção, o copolímero PLGA é amplamente utilizado e aceito pela indústria farmacêutica por ser biodegradável e biocompatível (DANHIER *et al.*, 2012).

O método da dupla emulsificação é o mais utilizado no desenvolvimento de nanopartículas para o transporte de proteínas, que são moléculas hidrofílicas. A principal abordagem para caracterização destas formas farmacêuticas envolve as análises de tamanho de partícula por meio da análise do raio hidrodinâmico através do espalhamento de luz dinâmico (BOOTZ *et al.*, 2004).

Nesse estudo, foi feita a análise do tamanho de partícula e índice de polidispersão dos sistemas contendo nanopartículas de PLGA (Poly (D,L-lactide-*co*-glycolide), levando em consideração duas variáveis: concentração do surfactante, e tempo de homogeneização. O objetivo dos testes foi obter o sistema mais viável e adequado para encapsulação de proteínas para veiculação intravenosa.

2. METODOLOGIA

Algumas variáveis do processo de formulação afetam as propriedades físico-químicas das nanopartículas, como por exemplo o tamanho de partícula. Dentre elas estão: velocidade de homogeneização e concentração do tensoativo. Estas duas variáveis foram estudadas neste trabalho com a finalidade de se chegar a um sistema ideal, mantendo todas as outras variáveis constantes durante a elaboração dos sistemas.

2.1 Elaboração dos sistemas

2.1.1 Método

O método utilizado foi o de dupla emulsificação com evaporação do solvente, sendo o mesmo mais abordado na literatura para encapsulação de proteínas.

2.1.2 Equipamento

Foi utilizado o ultraturrax, pelo fato de o mesmo ser o mais adequado para formação de emulsão.

2.1.3 Polímero

O polímero usado neste estudo foi o PLGA com proporção de 50:50 com peso molecular entre 30,000-60,000.

2.1.3.1 Polímero usado na fase externa

Foi usado o álcool polivinílico (PVA), pelo fato de o mesmo, segundo amplos relatos na literatura manter a estabilidade dos sistemas.

2.2 Preparação das Nanopartículas

Foram preparadas soluções de PVA 0,5%, 1% e 1,5%, usadas como estabilizantes dos sistemas. Para 1ª emulsão, pesou-se 0,05 g de PLGA, adicionou-se 2,5 mL de clorofórmio e 250 µL de água de procedência MilliQ, a solução obtida foi submetida a homogeneização no turrax com três ciclos de 30 ou 60 segundos. Para obter a 2ª emulsão, a 1ª emulsão foi vertida em 10 mL da solução de PVA nas concentrações acima estabelecidas, e levada novamente homogeneizada por três ciclos de 30 e 60 segundos com potência de 50%. A emulsão formada foi levada para evaporação do solvente (24 horas). Em seguida, os sistemas foram centrifugados por 15 minutos a 3220 g (4000 RPM) e temperatura de 25 °C, sendo lavados duas vezes com água e ressuspendidos.

2.3 Caracterização dos sistemas

2.3.1 Espalhamento de luz dinâmico

A análise de espalhamento de luz dinâmico, que permite inferir sobre o raio hidrodinâmico dos sistemas de nanopartículas (do inglês *Dynamic light scattering* (DLS)) foi feita na concentração de 1 mg.mL⁻¹ bem como das amostras diluídas no equipamento Zetasizer (Malvern Instruments).

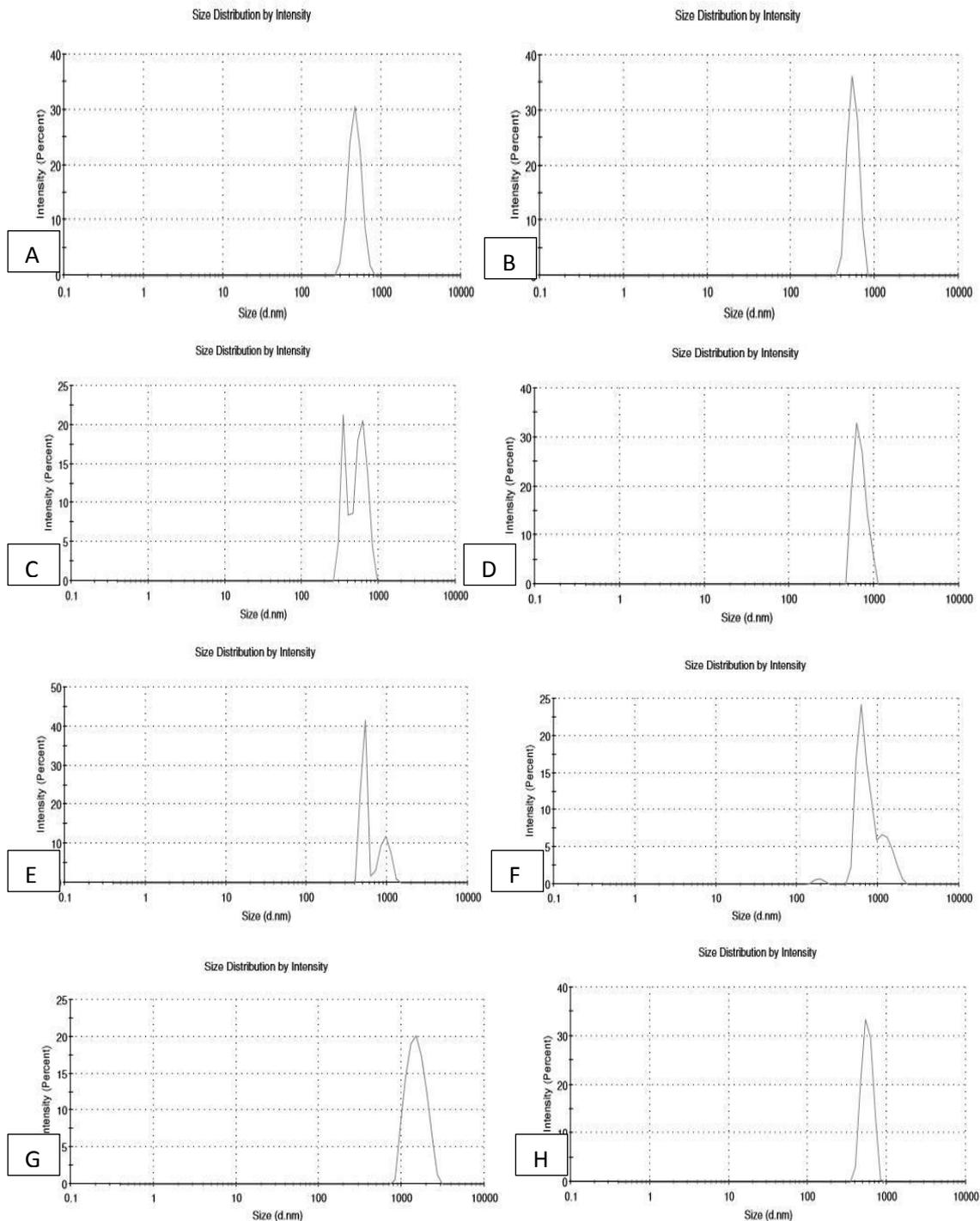
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 abaixo e também na figura 1 que segue, pode-se observar o resultado da análise de espalhamento de luz dinâmico para os sistemas elaborados.

Tabela 1- Resultado da análise de espalhamento de luz dinâmico (DLS) por intensidade para nanoestruturas obtidas a partir do PLGA 50:50 (30-60 KDa)

Sistema Formado	Concentração do surfactante (PVA) (%)	Tempo de agitação	Diâmetro hidrodinâmico por intensidade (nm)	Índice de Polidispersão (IPD)
Sistema A	0,5	30 segundos	463 (100%)	0,587
Sistema B	0,5	60 segundos	549,2 (100%)	0,684
Sistema C	1	30 segundos	581,7 (68,1%) e 348,7 (31,9%)	0,918
Sistema D	1	60 segundos	678,3 (100%)	0,638
Sistema E	1,5	30 segundos	508 (65,5%) e 923,1 (34,5%)	0,856
Sistema F	1,5	60 segundos	669,8 (72,7%), 1262 (25,5 %) e 186 (1,8%)	0,752

Figura 1- Análise dos sistemas A,B,C,D,E e F pela técnica de espalhamento de luz dinâmico.



Segundo Sharma et al (2016), quanto menor a concentração de surfactante utilizada na elaboração dos sistemas menos estável será o mesmo, com tendência a separação de fases, o mesmo pode-se referir ao tempo de homogeneização, quanto menor esse tempo, mais provável a coalescência desses sistemas. É o que podemos observar sistema A na

figura 2 abaixo, imediatamente após a elaboração deste sistema houve coalescência, e mesmo um tamanho de partícula pequeno não houve formação de emulsão, conseqüentemente não formando um sistema nanoparticulado. O sistema B também apresentou um menor tamanho de partícula em relação aos demais, uma vez que, em poucas horas depois apresentou separação de fases, confirmando o que foi dito anteriormente.

Figura 2- Sistema A com separação de fases



Para os demais sistemas foi observado macroscopicamente a formação da emulsão. Desta forma, pode-se inferir que o sistema de melhor resultado foi o sistema D com concentração de surfactante 1% e tempo de homogeneização de 60 segundos, e também índice de polidispersão (IPD) de 0,638 que em comparação aos dos demais sistemas sugere uma homogeneidade maior. Porém o mesmo ainda não é viável para administração intravenosa, pois o diâmetro médio de partícula para esta via é <200 nm e uma distribuição de tamanhos estreita para evitar o risco de embolia (BOOTZ et al., 2004).

4. CONCLUSÃO

Estes resultados apontam para necessidade de otimizar o método e possivelmente utilizar outro polímero com menor peso molecular já que é desejado obter partículas de tamanho menores.

REFERÊNCIAS

- BOOTZ, A. et al. Comparison of scanning electron microscopy, dynamic light scattering and analytical ultracentrifugation for the sizing of poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 369–375, 2004.
- DANHIER, F. et al. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 161, n. 2, p. 505–522, 2012.
- LOPES, C. et al. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, nº2, São Paulo, Abril/Junho 2005.
- SHARMA, N. et al. Effect of process and formulation variables on the preparation of parenteral paclitaxel-loaded biodegradable polymeric nanoparticles: A co-surfactant study. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.11, p.404-416, 2016.