

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO RESVERATROL

Júlia Guarnetti de Oliveira Santiago Prates (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Carla Maria Mariano Fernandez (PCF/Uem), Thaysa Ksiaskiewicz Karam (PCF/Uem), Benedito Prado Dias Filho (Orientador), e-mail: bpdfilho@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Maringá, PR.

Área: Ciências Biológicas; Subárea: Microbiologia

Palavras-chave: Resveratrol; nanopartículas; antioxidante.

Resumo:

A nanotecnologia tornou-se um dos eixos da inovação graças ao design de materiais de escala nanométrica que aproveitam as modificações químicas e físicas para desencadear diversas vantagens em relação ao composto livre. Nesse viés, o presente trabalho visou incorporar o antioxidante resveratrol em nanopartículas, a fim de preservar sua atividade antioxidante, proteger sua biodisponibilidade e assegurar sua estabilidade. Para tanto, desenvolveu-se formulações de nanopartículas lipídicas sólidas pelo método da emulsificação, nanopartículas poliméricas de poli (ácido láctico) (PLA) pelo método de precipitação e nanopartículas poliméricas de β -ciclodextrina (β CD) por precipitação e secagem em Nano Spray Dryer. Em relação às amostras, as NLS se mostraram inviáveis de trabalhar devido a sua citotoxicidade. As NP apresentaram tamanho 273,6nm, índice de polidispersão de 0,11, potencial zeta -28,0mV e eficiência de encapsulação de 99,3%. As NP β CD apresentaram características físico-químicas satisfatórias, tamanho de 1162,00nm, índice de polidispersão de 0,24, potencial zeta -25,2 mV e eficiência de encapsulação de 99,64%. No entanto as NP β CD mostraram maior porcentagem de liberação do fármaco e conseqüentemente maior atividade antioxidante.

Introdução

No campo dos cosméticos, alimentos e medicamentos, a nanotecnologia tornou-se um dos eixos da inovação graças ao design de materiais de escala nanométrica que aproveitam as modificações químicas e físicas para melhorar a solubilidade aquosa de compostos hidrofílicos e lipofílicos, aumentar a estabilidade físico-química, permitir a liberação controlada, ampliar a biodisponibilidade dos fármacos, potencializar a velocidade de liberação de ativos e proteger os fármacos sensíveis a condições ambientais. (MAINARDES, 2007, THOMPSON et Al., 2007, AHMAD et al., 2011). Os sistemas nanocarreadores como micelas, lipossomas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, nanocristais, ciclodextrinas, dendrímeros,

nanopartículas metálicas e outros sistemas estão sendo amplamente utilizados (JATO, 2009, MARCATO, 2009).

O resveratrol é um antioxidante que pode ser encontrado nas sementes e na pele da uva tinta, produzido pela planta para se defender de microorganismos. Além disso, o resveratrol serve para combater radicais livres que danificam as células e promovem o envelhecimento precoce. (GUSMAN, et al., 2001).

Materiais e métodos

As nanopartículas lipídicas sólidas contendo resveratrol (NLS) foram desenvolvidas pela técnica de emulsificação com: Resveratrol (0,3%), Precirol® ATO 5 (1,4%), Phospholipon S75 (1,0%), Óleo de mamona hidrogenado etoxilado com 40 mols de óxido de eteno (2,5%). As nanopartículas poliméricas de poli (ácido láctico) (PLA) foram desenvolvidas pelo método de precipitação: Resveratrol (5 mg), PLA (50mg) e pluronic F68 (1,0%) e as nanopartículas poliméricas de β -ciclodextrina (β CD) contendo resveratrol foram preparadas por precipitação e secas em Nano Spray Dryer (BUCHI®B-90). Foram realizadas análises para a caracterização físico-química das nanopartículas: diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial Zeta (Litesizer 500 particle analyzer), eficiência de encapsulação, quantidade de ativo, ensaio de liberação *in vitro* em soluções de PBS em pH 7,4 por 48 h e pH 1,5 por 2 h, FT-Raman e análise morfológica em microscópio eletrônico de transmissão (MET) e varredura (MEV). A citotoxicidade das NLS foi avaliada em macrófagos J774.A1 e a citotoxicidade das NP e NP β CD em células Vero, atividade hemolítica em sangue de carneiro e a atividade antioxidante pelo método do DPPH. A partir das NP β CD desenvolveu-se balas de gomas de gelatina.

Resultados e Discussão

As nanopartículas lipídicas sólidas contendo resveratrol apresentaram um diâmetro médio de 126,52 nm, com índice de polidispersão de 0,29 e potencial Zeta de -24,7 mV. Através da análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET) observou-se que as NLS apresentaram forma esférica. A citotoxicidade das NLS foi testada em macrófagos J77-4 A.1. No entanto, os resultados obtidos mostraram que as NLS apresentaram citotoxicidade superior ao composto livre. Sendo assim, optou-se por continuar as análises apenas com as NP e NP β CD.

Desse modo, na Tabela 1 estão descritos os resultados referentes à caracterização física e química da NP e NP β CD.

Tabela 1- Caracterização das nanopartículas poliméricas contendo Resveratrol.

	NP	NPB	NP β CD	NP β CDB
Tamanho (nm)	273,60	248,00	1162,00	217,90
Índice de polidispersão	0,11	0,03	0,24	0,26
Potencial Zeta (mV)	-28,00	-27,60	-25,20	-13,0
Eficiência de encapsulação (%)	99,30	-	99,64	-
Quantidade de Resveratrol (%)	0,50	-	0,50	-

NP: nanopartículas poliméricas contendo resveratrol; NPB: nanopartículas poliméricas sem resveratrol; NP β CD: nanopartículas poliméricas de β -ciclodextrina contendo resveratrol; NP β CDB: nanopartículas poliméricas de β -ciclodextrina sem resveratrol.

As imagens por MET e MEV confirmam a formação das NP e NP β CD. As amostras apresentaram forma esférica, entidades separadas com diâmetros de tamanho variado e coerente com o determinado pela análise por DLS.

Observou-se que na análise de FT-Raman os espectros da NP e NP β CD apresentaram bandas características da interação do resveratrol e os excipientes. Já em relação às NP β CD a redução das intensidades de absorção das bandas correspondentes sugeriu que os grupos funcionais do fármaco foram incluídos dentro da cavidade apolar de β -CD formando as NP β CD.

O ensaio de liberação *in vitro* foi realizado para as NP e NP β CD em pH 1,5 por 2h e pH 7,4 por 48 h a 37° C a 500 rpm em diferentes intervalos. As NP em 48 h em pH 7,4 não liberou o ativo, já em pH 1,5 no tempo de 2 h liberou 0,4% do resveratrol presente nas NP.

Já as NP β CD em pH 7,8 por 48 h liberou 1,7% do ativo e em pH 1,5 por 2 h liberou 0,7% do resveratrol presente nas NP β CD.

No experimento utilizado para avaliar a citotoxicidade, as NP, NPB, NP β CD, NP β CDB e Resveratrol mostraram baixa atividade hemolítica, com menos de 2% de lise em 60 min de incubação em todas as concentrações.

Já em relação ao ensaio em células Vero, as NP, NPB, NP β CD, NP β CDB e Resveratrol apresentaram CC₅₀ de 83, >1000, 38, >1000 e 18 μ g/mL, respectivamente. As nanopartículas carregadas com resveratrol apresentaram menor citotoxicidade quando comparadas com a amostra de resveratrol livre. Nesse sentido, sugere-se que a nanoencapsulação ajudou a melhorar a citotoxicidade do fármaco.

Em relação da atividade antioxidante pelo método do DPPH observou-se que as NP não apresentaram atividade provavelmente pela não liberação do composto antioxidante. E as NP β CD e resveratrol apresentaram IC₅₀ 344,15 e 170,68 μ g/mL, respectivamente.

Na Figura 1, estão apresentadas as balas de goma de gelatina contendo as NP β CD desenvolvidas.

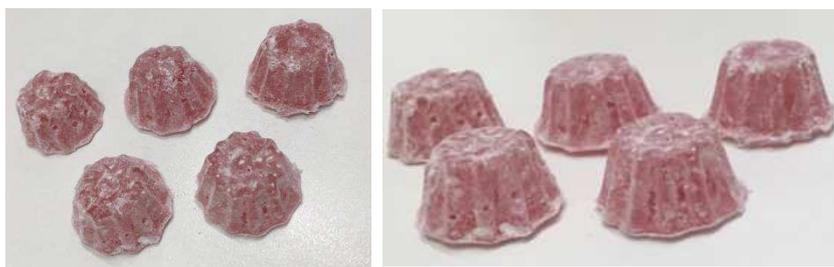


Figura 1– Balas de goma com nanopartículas poliméricas de β - ciclodextrina contendo Resveratrol.

Conclusões

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que a nanoencapsulação do resveratrol ajudou a melhorar algumas características do fármaco, como a citotoxicidade e ajudou a preservar sua atividade antioxidante protegendo-o das condições ambientais.

Em relação às amostras, as NLS se mostraram inviáveis de trabalhar devido a sua citotoxicidade. Já as NP e NP β CD apresentaram características físico-químicas satisfatórias. No entanto, as NP β CD mostraram maior porcentagem de liberação do fármaco e conseqüentemente maior atividade antioxidante.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, COMCAP UEM

Referências

- AHMAD, M.; MADNI, A.; USMAN, M.; MUNIR, A.; AKHTAR, N.; KHAN, H. M. S. Pharmaceutical microencapsulation technology for development of controlled release drug delivery systems. **World Academy of Science, Engineering and Technology** v. 75, p.384-387, 2001.
- JATO, J. L. V. Nanotecnología farmacêutica, realidades y posibilidades farmacoterapéuticas. **Instituto de España: Real Academia Nacional de Farmacia, Monografía XXVIII**, Madri, 2009.
- MAINARDES, M. M. Desenvolvimento de nanopartículas de PLA e PLA-PEG para administração intranasal de zidovudina. 133 p. **Doutorado em Ciências Farmacêuticas**, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.
- MARCATO, P. D. Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, p. 1-37, 2009
- THOMPSON, C. J.; HANSFORD, D.; HIGGINS, S.; ROSTRON, C.; HUTCHEON, G. A.; MUNDAY, D. L. Evaluation of ibuprofen-loaded microspheres prepared from novel copolyesters. **International Journal of Pharmaceutics** n. 329, p. 53-61, 2007.
- GUSMAN, J.; MALONNE, H.; ATASSI, G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. **Carcinogenesis**, v. 22(80), p. 1111-1117, 2001