

DESENVOLVIMENTO DE CRISTAIS LÍQUIDOS CONTENDO PHOSAL E SUAS NANODISPERSÕES

Alanna Letícia Do Carmo Aquino¹

Jéssica Roberta Pereira Martins²

Lorena Maria Ferreira De Lima³

Raquel Petrilli Eloy⁴

RESUMO

Cânceres de pele são definidos como um tecido tumoral formado por células da pele que sofreram modificações funcionais e passam a se multiplicar de forma desordenada e anormal. O tratamento de cânceres de pele com cirurgia, quimioterapia e radioterapia é debilitante e possui efeitos colaterais e sequelas. A terapia fotodinâmica consiste na aplicação de um agente fotossensibilizante e luz em comprimento de onda específico, capaz de gerar dano oxidativo e morte das células tumorais. Diferentes estratégias podem ser empregadas para facilitar a penetração de substâncias na pele. O desenvolvimento de sistemas nanocarreadores é uma alternativa bastante promissora e vantajosa. Dentre os diferentes sistemas de liberação disponíveis, os cristais líquidos e suas nanodispersões possuem destaque para a veiculação de fármacos devido a possibilidade de encapsular moléculas fotossensibilizantes, além do aspecto inovador e biocompatível destas formulações. Uma etapa certamente desafiadora consiste no desenvolvimento das formulações líquido cristalinas bulk-phase (não nanodispersas) e suas nanodispersões. A escolha dos componentes das formulações deve ser bastante criteriosa e considerar diversos aspectos da formulação e da incorporação do fármaco ao sistema. Desta forma, o objetivo geral do presente trabalho foi desenvolver, caracterizar e avaliar cristais líquidos e suas nanodispersões, visando obter formulações inovadoras capazes de incorporar fotossensibilizante modelo promissoras para o tratamento do câncer de pele, sendo a hipótese fundamental que é viável obter cristais líquidos e suas nanodispersões utilizando diferentes óleos vegetais e tensoativos e, portanto, obter cristais líquidos inovadores visando a aplicação em futuros projetos no tratamento tópico do câncer de pele.

Palavras-chave: Cristais líquidos; Nanodispersões; Via tópica; Fotossensibilizantes.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Discente, leticiaaquino@aluno.unilab.edu.br¹

Universidade Federal do Ceará (UFC), Instituto de Ciências da Tecnologia, Discente, jessica.r160@gmail.com²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Discente, lorenaalima@aluno.unilab.edu.br³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Docente, petrilliraquel@unilab.edu.br⁴

INTRODUÇÃO

Cristais líquidos podem ser definidos como um estado em que a matéria se apresenta em uma fase intermediária entre o líquido cristalino e o sólido cristalino. São sistemas anfifílicos, que podem ser usados para transportar fármacos, proteínas, peptídeos e ácidos nucleicos. Esses sistemas são classificados de acordo com a complexidade de suas mesofases, sendo que os liotrópicos, ou seja, aqueles cuja formação depende da concentração dos componentes, são os mais utilizados para fins farmacêuticos. Atualmente, estas mesofases estão sendo amplamente utilizadas para o transporte de fármacos por alternativas via de administração, como cutânea, sendo a fase hexagonal a mais interessante para promoção da penetração cutânea.

METODOLOGIA

Inicialmente, foi construído o diagrama de fases, para avaliação da formação de cristais líquidos, utilizando na fase oleosa (ácido oléico, óleo de girassol ou óleo de oliva), e Tampão PBS pH 7,4 contendo 1,5% (p/p) de Poloxamer (fase aquosa). As formulações indicadas na tabela 1 foram selecionadas do diagrama, e após 24h de repouso foram caracterizadas por microscopia de luz polarizada. As formulações com ocorrência da anisotropia foram dispersas em ultrassom de haste a 20 kHz. As dispersões foram caracterizadas por espalhamento dinâmico de luz sendo avaliado tamanho, polidispersividade (PdI) e zeta. Os parâmetros avaliados para a validação do método foram linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação conforme preconizado na RDC 166 de 24 de julho de 2017 da ANVISA (BRASIL, 2017). Ademais, a quantificação de Curcumina foi realizada seguindo estudos prévios (SIQUEIRA-MOURA et al., 2013) e estudos em andamento do grupo. Curvas analíticas foram preparadas em metanol na faixa de 0,5 a 5 µg/mL para quantificação por espectrofotometria em comprimento de onda de 422 nm, seguindo as especificações da RDC 166/2017 (BRASIL, 2017). Para a incorporação da curcumina, foram realizadas em uma formulação selecionada, que apresentaram cristais líquidos de fase hexagonal ou lamelar, estáveis por 30 dias macroscopicamente e por microscopia de luz polarizada e que ao serem dispersos por ultrassom de haste foram capazes de gerar nanopartículas com tamanho de partícula adequado à veiculação tópica (120 a 377 nm) (VERMA et al., 2003) e baixa polidispersividade. O fotossensibilizante foi incorporado à fase oleosa dos cristais líquidos no momento do preparo (3mg Curcumina) seguido pela adição da fase aquosa.

Tabela 1 - Proporções das formulações contendo Phosal 50 as+, Fase oleosa (ácido oléico, óleo de girassol ou óleo de oliva), e Tampão PBS pH 7,4 contendo 1,5% (p/p) de Poloxamer (fase aquosa).

Formulação	Fase aquosa	Phosal 50 SA+	Fase oleosa
A	70 p/p	25 p/p	5 p/p
B	70 p/p	20 p/p	10 p/p
C	70 p/p	15 p/p	15 p/p
D	70 p/p	10 p/p	20 p/p
E	70 p/p	5 p/p	25 p/p
F	80 p/p	15 p/p	5 p/p
G	80 p/p	10 p/p	10 p/p
H	80 p/p	5 p/p	15 p/p

Fonte: Dados da pesquisa

A determinação da porcentagem de encapsulação (EE%) foi realizada utilizando-se do método proposto por SIQUEIRA-MOURA et al (2010) e ELOY et al (2016b) com modificações. Sendo, a curcumina encapsulada separada da Curcumina livre por filtração em membrana PVDF de porosidade 0,45 µm,. Alíquotas da formulação Cristal líquido total (obtido previamente a separação) e o Cristal líquido purificado (obtido após filtração) serão solubilizados em metanol (1:1 v/v) e submetidos a agitação em vórtex por 5 min para ruptura das nanopartículas e solubilização do pigmento. As amostras serão então diluídas e filtradas em membranas com porosidade de 0,45 µm para a quantificação pelo método analítico validado. A porcentagem de eficiência de encapsulação será calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Eficiência de encapsulação (EE\%)} = \frac{(\text{Concentração de curcumina total} - \text{Concentração de curcumina livre})}{(\text{Concentração de curcumina total})} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do resultado da curva analítica de Curcumina (µg/mL) versus absorvância a construção da curva analítica mostrando uma relação linear das soluções de 0,5 à 5,0 µg/mL, pode-se observar que A menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas constitui o limite de detecção (LONG et al., 1983). Logo, a partir do resultado obtido pode-se verificar que valor de limite de detecção obtido mostra que a quantidade mínima de Curcumina capaz de ser detectado de maneira confiável pelo método é de 0,22 µg/mL. O limite de quantificação é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas (CURRIE et al., 1994) Logo, no experimento o valor de limite de quantificação obtido mostra que a quantidade mínima de Curcumina que pode ser quantificada de maneira confiável pelo método é de 0,67 µg/mL.

As dispersões das formulações A, B, G e H por apresentarem os melhores indicativos de cristais líquidos na microscopia de luz polarizada foram selecionadas para serem avaliadas em tamanho, polidispersividade (PDI), potencial zeta, e condutividade. O tamanho da partícula obtidos nas formulações, foram de 90,37 a 163,73 nm. Enquanto o índice de polidispersão (PDI) nas formulações demonstraram valores ainda mais satisfatórios, pois indicaram uma maior homogeneidade no tamanho das partículas, pois os valores estão mais próximos de zero. Enquanto o potencial zeta obtido nas formulações, foram de -16,73 a -24,03 mV como já elucidado, este valor representa uma forma de avaliar as cargas superficiais de cada nanopartícula e como isso afeta a estabilidade da formulação. Por fim, os valores de condutividade nas formulações A e B, respectivamente, foram 0,13 a 0,31 sendo mais semelhante aos valores obtidos nas formulações com ácido oleico no tópico. Os valores obtidos após a nanodispersão das formulações A, B, G e H constam na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização de tamanho de partícula, PDI, potencial zeta e condutividade das formulações com seus respectivos valores de desvio padrão (DP).

Formulação Tamanho (nm) ± DP PDI ± DP Potencial Zeta (mV) ± DP Condutividade (mS/cm) ±

DP

A	138,83 ± 2,82	0,194 ± 0,01	-16,73 ± 0,45	0,314 ± 0
B	160,3 ± 4,04	0,236 ± 0	-24,03 ± 0,61	0,15 ± 0
G	163,73 ± 1,78	0,19 ± 0,01	-21,63 ± 0,39	0,197 ± 0
H	90,37 ± 0,54	0,191 ± 0,01	-20,73 ± 0,01	0,13 ± 0

Fonte: Dados da pesquisa

Devido a formulação H demonstrar melhor solubilização à curcumina, ela foi selecionada para a determinação de eficiência de encapsulação da curcumina partir da curva de calibração da curcumina obtida anteriormente foi possível quantificar a porcentagem de fármaco encapsulado na nanodispersão. pode-se obter os valores em porcentagem (%) referentes a eficiência de encapsulação da curcumina na formulação H analisada de 38,02%.

CONCLUSÕES

A partir das primeiras formulações preparadas a partir de Phosal 50 SA+, ácido oleico, e fase aquosa contendo Tween 80 + água destilada obteve-se cristais líquidos apenas na formulação A. Após a mudança da fase aquosa para tampão PBS pH 7,4 1,5% de Poloxamer, foram obtidos cristais líquidos de fase hexagonal Indicando tamanhos de partícula ainda menores em comparação as primeiras formulações antes da mudança da fase aquosa que em média eram aproximadamente 767nm. Demonstrando assim uma maior homogeneidade dos cristais líquidos e poder de veiculação para a via tópica. Entretanto, não obteve-se cristais líquidos a partir de Phosal 50 SA+, óleo de girassol, e fase aquosa contendo tampão PBS pH 7,4 1,5% de Poloxamer. Em contrapartida, obtendo-se cristais líquidos nas fases lamelares, as formulações apresentando óleo de oliva em sua composição demonstraram serem as melhores com valores excelentes para a veiculação tópica ademais, foi possível validar método analítico de quantificação de Curcumina por espectrofotometria Uv-Vis, se mostrando adequado para quantificar o fármaco com precisão e exatidão.

AGRADECIMENTOS

À UNILAB por ter concedido a bolsa PIBIC, e ao laboratório CEDEFAR/Universidade Federal do Ceará por permitir a utilização de equipamentos. Este trabalho faz parte do projeto Desenvolvimento de cristais líquidos contendo Phosal e suas nanodispersões, cadastrado sob o número PVS1439-2021, bolsa 2021-04 Pibic-Unilab (IC).

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução n°166, de 24 de julho de 2017- "Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências". Disponível em <https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>

CURRIE, L.; HORWITZ, W. IUPAC recommendations for defining and measuring detection and quantification limits. **Analysis Magazine**, v. 22, n. 5, p. M24-M26, 1994.

PETRILLI, R. et al. Liquid Crystalline Nanodispersions Functionalized with Cell-Penetrating Peptides for Topical Delivery of Short-Interfering RNAs: A Proposal for Silencing a Pro-Inflammatory Cytokine in Cutaneous Diseases. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 12, n. 5, p. 1063-1075, 2016.

SIQUEIRA-MOURA, M. P. et al. Development, characterization, and photocytotoxicity assessment on human melanoma of chloroaluminum phthalocyanine nanocapsules. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 3, p. 1744-1752, 1 abr. 2013.

VERMA, D. D. et al. Liposomes increase skin penetration of entrapped and non-entrapped hydrophilic substances into human skin: a skin penetration and confocal laser scanning microscopy study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 55, n. 3, p. 271-277, maio 2003.