



**Fundação Educacional do Município de Assis  
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis  
Campus "José Santilli Sobrinho"**

## **RELATÓRIO: Produção de nanocápsulas de PLA e PHB**

**Orientando: Gustavo Pinheiro Camilo**

**Orientadora: Dr<sup>a</sup> Sílvia Maria Batista de Souza**

**Linha de pesquisa: Ciências Exatas e da Terra**

**Assis**

**-2014-**

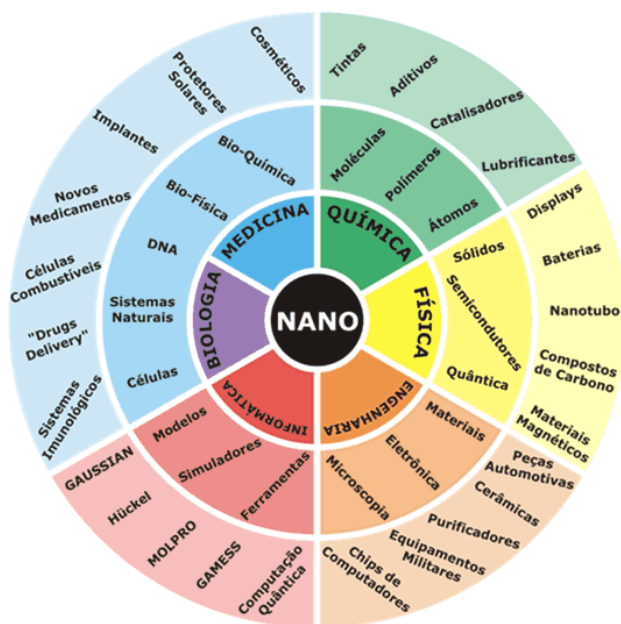
## 1. INTRODUÇÃO

As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o princípio ativo estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica (SHAFFAZICK, 2003). São estruturas coloidais constituídas por vesículas de um fino invólucro de polímero biodegradável e uma cavidade central com núcleo oleoso, no qual a substância ativa encontra-se dissolvida, sendo, por isso, consideradas um sistema reservatório, o qual apresenta diâmetro submicrométrico, variando entre 10 a 1000 nm (SCHMALTZ, 2005). Os métodos relatados na literatura para a preparação de nanopartículas poliméricas podem ser classificados em métodos baseados na utilização de monômeros dispersos (polimerização em emulsão e de polimerização interfacial) e método de precipitação de polímeros pré-formados. Independente do método utilizado obtêm-se um sistema na forma de suspensão coloidal.

Um dos fatores limitantes ao uso de nanopartículas como sistemas de liberação controlada de fármaco é quanto a sua estabilidade. Durante o armazenamento pode ocorrer agregação das nanopartículas resultando em sua precipitação. Estes problemas podem ser contornados por técnicas de secagem da suspensão coloidal tais como a liofilização e a secagem por aspersão. O objetivo deste trabalho é produzir Nanocápsulas de PLA (ácido polilático) e PHB (polihidroxibutirato).

## 2. Nanocápsula

Nanotecnologia envolve diversas áreas da ciência são sistemas apresentam diâmetro entre 1 a 100nm. Na figura 1 pode-se observar a denominação nano envolvendo todas as atividades da ciência e a inter-relação nas diversas áreas.

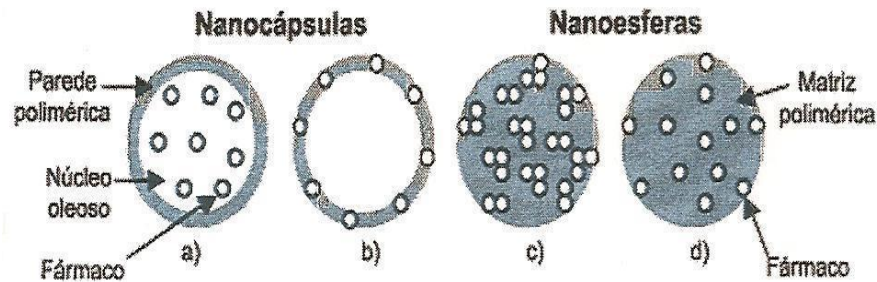


**Figura 1: A interdisciplinaridade da nanotecnologia (In:[http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/nano\\_introducao.asp](http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/nano_introducao.asp))**

As nanopartículas podem ser divididas em nanocápsulas e nanoesferas.

Denomina-se nanoesfera (figura 2, a e b), aqueles sistemas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso ou solubilizado no interior da matriz polimérica, desta forma obtêm-se um sistema monolítico, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado.

Denomina-se nanocápsula (figura 2, c e d), os sistemas do tipo reservatórios, onde é possível se identificar um núcleo diferenciado, que pode ser sólido ou líquido, neste caso, a substância encontra-se envolvida por uma membrana, geralmente polimérica, isolando o núcleo do meio externo (Schaffazick, et al., 2003). Segundo Schmaltz et al (2005), as nanocápsulas são estruturas coloidais constituídas por vesículas de um fino invólucro de polímero biodegradável e uma cavidade central com núcleo oleoso, no qual a substância ativa encontra-se dissolvida, sendo, por isso, consideradas um sistema reservatório, o qual apresenta diâmetro submicrométrico, variando entre 10 a 1000 nm.



**Figura 2: Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas (in: Schaffazick et al., 2003).**

As nanocápsulas começaram a ser estudadas como sistemas carreadores de fármacos, em meados dos anos noventa. Nos últimos anos, pesquisadores tem buscado o controle da liberação de substâncias em sítios de ação específicos no organismo, com o propósito de melhorar o resultado da terapia farmacológica.(Schmaltz, et al, 2005)

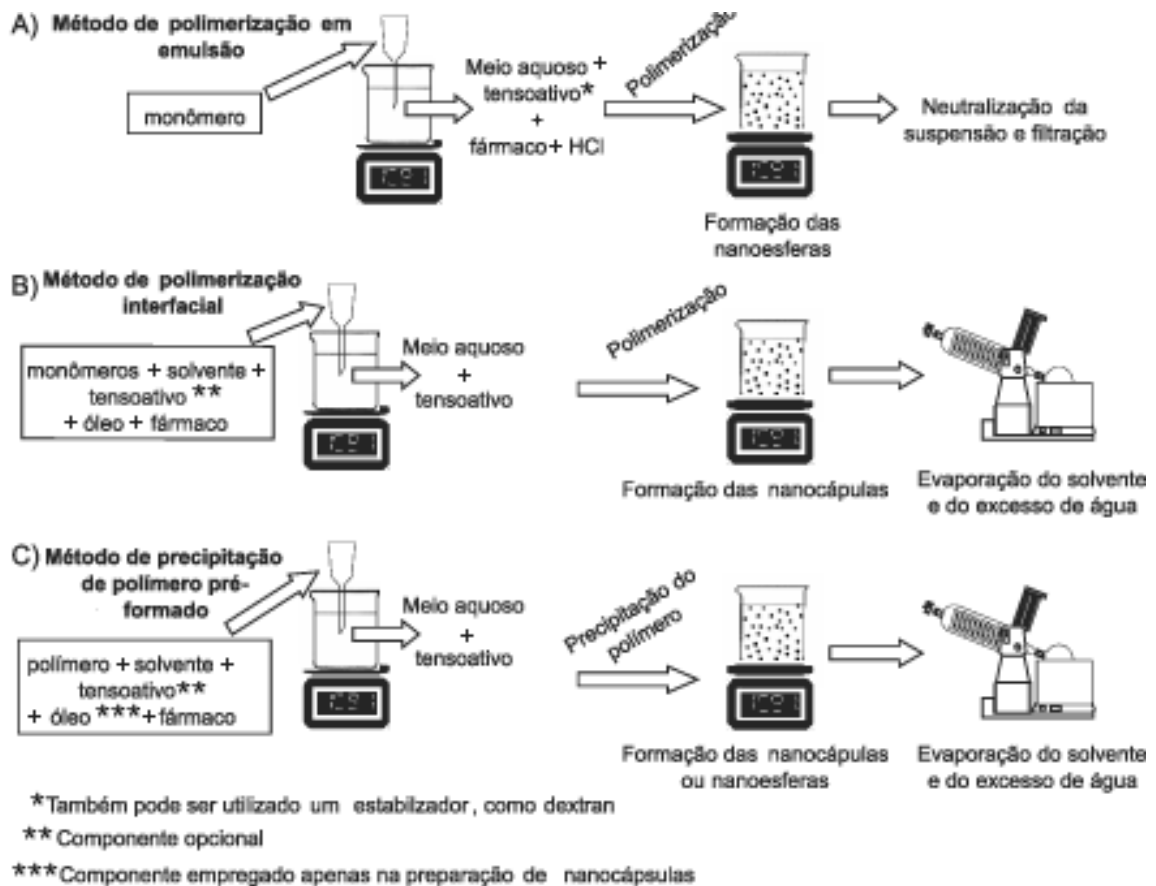
As vantagens com esse sistema de liberação prolongada utilizando nanocápsulas são as seguintes:

- a) Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz;
- b) Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação;

- c) Natureza e composição dos veículos variada e, ao contrário do que se poderia esperar, não há predomínio de mecanismos de instabilidade decomposição do fármaco;
- d) Administração segura ( sem reações inflamatórias locais) e conveniente( menor número de doses);
- e) Direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas;

A liberação do princípio ativo a partir de sistemas nanoparticulados poliméricos depende de diferentes fatores: 1- da desorção do fármaco da superfície das partículas; 2- da difusão do fármaco através da matriz das nanoesferas; 3- da difusão através da parede polimérica das nanocápsulas; 4- da erosão da matriz polimérica ou 5- da combinação dos processos de difusão e erosão.

Existem vários métodos relatados na literatura para a preparação de nanopartículas poliméricas, os quais podem ser, de uma forma geral, classificados em métodos baseados na polimerização *in situ* de monômeros dispersos (cianoacrilato de alquila) ou na precipitação de polímeros pré-formados, tais como poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) e, ainda, os copolímeros do ácido metacrílico e de um éster acrílico ou metacrílico, figura 3 (Schaffazick, et al, 2003).



**Figura 3: Métodos empregadas na produção de nanocápsulas: monômeros dispersos (A e B), precipitação de polímeros pré-formados (in: Guinebretière et al,2002).**

Sistemas poliméricos de aplicação em sistemas de liberação de drogas não só permitem uma liberação lenta e gradual do ingrediente ativo, como também podem possibilitar o direcionamento a alvos específicos do organismo (Oliveira e Lima, 2006).

Polímeros biologicamente degradáveis incluem:

**Polímeros naturais:** são sempre biodegradáveis por exemplo, o colágeno, a celulose e a quitosana e são muito utilizados como matrizes em liberação de fármacos.

**Polímeros naturais modificados:** um problema encontrado em polímeros naturais é que eles frequentemente levam muito tempo para degradar. Isto pode ser resolvido adicionando-se grupos polares às cadeias, que por serem mais lábeis podem diminuir o tempo de degradação. Exemplos destas modificações podem ser a reticulação de gelatina utilizando-se formaldeído, a reticulação de quitosana utilizando-se glutaraldeído, levar celulose a acetato de celulose. Modificações enzimáticas também são utilizadas, como a modificação de quitosana por tirosinase.

**Polímeros sintéticos:** são também largamente utilizados, como por exemplo, poli(etileno), poli(álcool vinílico), poli(ácido acrílico), poli(acrilamidas), poliésteres.

Os problemas como falta de biocompatibilidade, solventes residuais e efeitos danosos em fármacos incorporados durante a fabricação da formulação ou durante a erosão do polímero. Portanto, a função, segurança da formulação e também a melhor posologia para o paciente são fatores que devem ser levados em consideração na seleção do polímero.

As propriedades físicas dos polímeros estão relacionadas à resistência das ligações covalentes, à rigidez dos segmentos na cadeia polimérica e à resistência das forças intermoleculares.

Em relação às propriedades dos polímeros, dois critérios devem ser seguidos na elaboração de uma formulação. Em primeiro lugar, as características químicas do polímero não devem comprometer a ação dos ingredientes ativos; em segundo lugar, as propriedades físicas do polímero devem ser consistentes e reprodutíveis de lote a lote.

Os materiais mais comuns incluem o hidroxipropil metilcelulose, etilcelulose, polivinilpirrolidona, e ésteres poliacrílicos, esses materiais podem ser usados tanto para a matriz quanto para revestimento na liberação controlada

Os métodos relatados na literatura para a preparação de nanopartículas poliméricas podem ser classificados em métodos baseados na utilização de monômeros dispersos (polimerização em emulsão e de polimerização interfacial) e método de precipitação de polímeros pré-formados. Independente do método utilizado obtêm-se um sistema na forma de suspensão coloidal.

Um dos fatores limitantes ao uso de nanopartículas como sistemas de liberação controlada de fármaco é quanto a sua estabilidade. Durante o armazenamento pode ocorrer agregação das nanopartículas resultando em sua precipitação. Estes problemas podem ser contornados por técnicas de secagem da suspensão coloidal tais como a liofilização e a secagem por aspersão.

Os polímeros para a obtenção das nanopartículas são selecionados de acordo com o mecanismo de liberação que será utilizado, isto é, se parenteral ou entérica. Muitas classes de polímeros tem sido estudadas para o uso em liberação controlada entre os quais polímeros derivados de celulose, ésteres poliacrílicos, polivinilpirrolidona, poli-ácido láctico, poli- $\epsilon$ -caprolactona (Oliveira e Lima, 2006).

As propriedades físico-químicas dos polímeros estão relacionadas à resistência das ligações covalentes, à rigidez dos segmentos na cadeia polimérica e à resistência das forças intermoleculares.

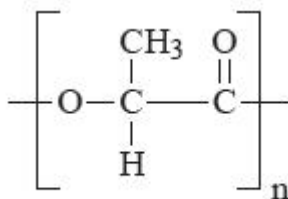
A determinação da quantidade de fármaco associada às nanopartículas é especialmente complexa devido ao tamanho reduzido destas. A ultracentrifugação é uma técnica empregada na separação do fármaco livre (Schaffazick et al., 2003).

Para a fase emulsão são empregados sistemas coloidais. Colóides são misturas heterogêneas de pelo menos duas fases de forma finamente dividida (sólidos, líquido ou gás), denominada fase dispersa, misturada com uma fase contínua (sólido, líquido ou



gás), denominada meio de dispersão. A ciência dos colóides se ocupa com sistemas nos quais um ou mais dos componentes apresentam pelo menos uma de suas dimensões dentro do intervalo de 1 nm a 1µm (1nm = 10<sup>-9</sup>m; 1µm = 10<sup>-6</sup> m), ou seja, existem sistemas contendo partículas extremamente pequenas e também sistemas contendo partículas grandes (Shaw, 1975).

Entre os biopolímeros utilizados na produção de nanocápsulas encontra-se o ácido poli-lático (figura 4). Segundo estudos benzocaína, um anestésico local, demonstrou maior eficiência quando encapsulado em nanocápsulas de ácido poli-D,L-lactídeo.



**Figura 4: Estrutura molecular do ácido (D-L lático)**

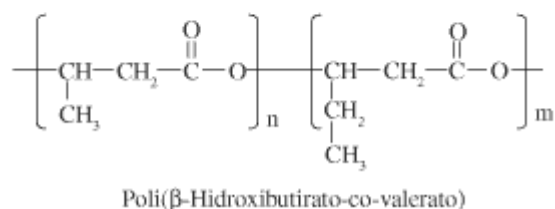
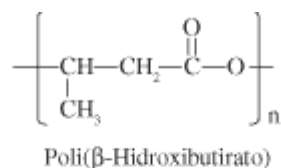
Neckel e Lemos-Senna, 2005, estudaram a eficiência de encapsulamento de camptotecina (um fármaco antitumoral) em nanocápsulas de ácido poli D,L-lático e copolímeros diblocos de ácido poli D,L-lático e polietilenoglicol e observaram uma eficiência de encapsulação do fármaco de 76 a 97% dependendo da formulação empregada.

Prado (2014) estudou a eficiência e encapsulamentos de moléculas orgânicas marcadoras de fluorescência em nanocapsulas produzidas a partir de ácido poli (D-L-lático) e demonstrou que estas nanocápsulas são promissoras como sondas para imagens óticas.

Outra matriz importante utilizada na produção de nanocápsula é o polihidroxibutirato (PHB) (figura 5), um políster biocompatível e biodegradável, obtido a partir do metabolismo secundário de algumas bactérias. Leite, 2004, estudou o microencapsulamento de polihidroxibutirato/progesterona a partir de 3 PHBs de

diferentes pesos moleculares, por técnica de spray dry e observou que produziu microcapsulas com superfície pouco rugosa e com diâmetro de de cerca de 5 µm.

Pimentel (2010) estudou a formação e cinética de liberação de nanocápsulas formadas por polihidroxi butirato/valerato (PHB/V) de três diferentes grupos em associação com poli-ε-caprolactano e observou que diferentes tamanhos de nanopartículas de PHB/V em associação com PCL podem afetar o tamanho e a cinética de liberação do princípio ativo.



**Figura 5: Estrutura molecular do Poli (β-hidroxi butirato) e Poli (β-hidroxi butirato – valerato)**

## **2.METODOLOGIA**

### **2.1 Materiais e Reagentes**

- Ácido Poli (D,L Láctico) (PLA) – (Natureworks – Cargill)
- Polihidroxibutirato (PHB) – cedido gentilmente pelo prof. Dr Luis Carlos Brandt (USP/SP)
- Acetona P.A. (Dinâmica)
- Lecitina de soja (Armagistral)
- Triglicerídeos de ácido cáprico e caprílico (Vital)
- Polissorbato 80 (Politecnico)
- Água destilada
- Balança analítica (Marte, AX220)
- Agitador magnético (Tecnal, Te-085)
- Evaporador rotativo (Tecnal, Te-210)

## **2.2 MÉTODOS**

### **Obtenção da nanocápsula de PLA**

A obtenção das nanocápsulas de PLA e de PHB foi realizada pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado (FESSI et al., 1989), envolvendo uma mistura de fase orgânica em outra mistura de fase aquosa. A fase orgânica foi constituída do polímero PLA ou PHB (100 mg), acetona (30 ml), lecitina de soja (40 mg) e triglicerídeo de ácido cáprico e caprílico (200 mg). A fase aquosa foi constituída de água destilada (30ml) e polissorbato 80 ( 60 mg).

Os componentes da fase orgânica e aquosa foi colocados separadamente em um béquer, mantidos em agitação constante a 40°C por uma hora. Em seguida, com a ajuda de um funil a fase orgânica foi vertida da fase aquosa e sob agitação por mais 10 minutos. Esta mistura foi concentrada em evaporador rotatório para eliminação do solvente orgânico.

### 3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

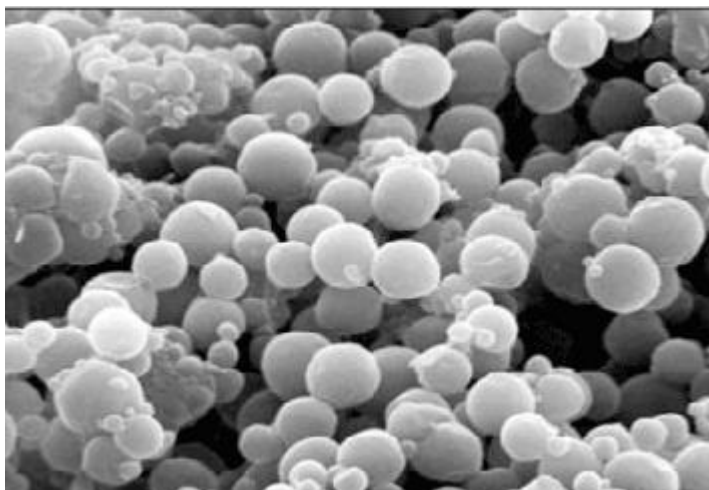
Segundo a literatura a vigorosa agitação da mistura da fase orgânica e da fase aquosa promove a formação de agregados moleculares da ordem de tamanho na escala de micro ou nanocápsulas.

Seguindo a metodologia observou-se após a agitação a formação de uma solução leitosa como apresentado na figura 4. Resultado semelhante foi obtido por Santos (2005) que observou a formação de nanocápsulas de PLGA contendo ácido úsnico.



**Figura 6: Emulsão contendo as nanocápsulas**

Em microscópio óptico observou-se pequenas partículas de forma arredondada o que evidenciou a formação de estruturas organizadas. Tais estruturas são compatíveis com microesferas observada na figura 7.



**Figura 7: Imagem de microscopia de varredura de microesferas(IN: Fialho e Cunha Junior, 2007)**

#### **4. Conclusão**

Os resultados obtidos indicam que a metodologia é adequada na formação de microestruturas e nanestruturas.

## 5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsules formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International Journal Pharmaceutics*, v. 55, 1989.

FIALHO, S.L., CUNHA JUNIOR, A.S., Sistema de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. *Arq. Bras. Oftalmol.* v.70 no.1, 2007.

GUINEBRETIERE,S., BRIANÇON,S., LIETO, J., MAYER, C., FESSI, H. Study of the Emulsion-Diffusion of Solvent: Preparation and Characterization of Nanocapsules. *Drug Development Research*, vol. 57 p. 18 – 33, 2002

HAMILTON, K.S., BARBER, K.R., DAVIS, J.H., NEIL, K., GRANT, C.W.M., *Biochem. Biophysics. Acta*, v. 1062, p. 220 – 226, 1991.

JAFELICCI Jr, M. O mundo dos colóides, *Química Nova na Escola*, n. 9, maio 1999, p. 9-13.

LEITE, H.M.E., Formulação e caracterização de matrizes de polihidroxibutirato para liberação controlada de fármaco, Dissertação, Laboratório de materiais avançados, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, Campo dos Goytacazes,p.92, 2004.

MELO, N.F.S, GRILLO, R., ROSA, A.H., FRACETO, L.F., DIAS FILHO, N.L., PAULA, E., ARAÚJO, D.R., Desenvolvimento e Caracterização de nanocápsula de poli(L-lactídeo) contendo benzocaína. *Química Nova*, vol.33, no.1, 65-69, 2010.



NANOTECNOLOGIA, Disponível em: [http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/nano\\_introducao.asp](http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/nano_introducao.asp). Acesso em: 16 de dezembro de 2014.

NECKEL, G.L., LEMOS-SENNA, E., Preparação e caracterização de nanocápsula contendo camptotecina a partir de ácido poli (D,L-lático) e de polímeros diblocos contendo ácido poli (D,L-lático) e polietilenoglicol, *Acta Farma Bonaerense*, vol. 24, no. 4, 504-511, 2005.

OLIVEIRA, R. B., LIMA, E.M. Polímeros na Obtenção de Sistemas de liberação de Fármacos. *Revista Eletrônica de Farmácia*, vol 3, no. 1, p. 29-35, 2006.

PIMENTEL, J.R.V., Liberação sustentada de microparticulas de PHB-V e PHB-V/PCL produzidas em meio super-crítico. Tese, Departamento de reprodução animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, São Paulo, 2010.

PRADO, W.A., Obtenção de materiais orgânicos conjugados com corantes fluorescentes para a marcação de nanocápsulas poliméricas como potencial aplicação em diagnóstico e terapêutica, Dissertação, Departamento de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 30, 2014.

SANTOS, N.P.; NASCIMENTO, S.C.; SILVA, J.F.; PEREIRA, E.C.G.; SILVA, N.H.; HONDA, N.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Antitumor activity of PLGA-nanocapsules containing usnic acid. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2005.

SCHMALTZ, C.; SANTOS, J. V.; GUTERRES, S., Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. *Infarma*, v.16, n.13-14, 2005. p.80-85.

SHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. Química Nova, v.26, no. 5, 726-737, 2003.

SHAW, D.J., Introdução à química de colóides e de superfície. Trad. De J.H. Maar. São Paulo: Edgard Blucher/Edusp, 1975.