DESENVOLVIMENTO DE CRISTAIS LÍQUIDOS E SUAS NANODISPERSÕES

Lorena Maria Ferreira De Lima[1]
Alanna Letícia Do Carmo Aquino[2]
Jéssica Roberta Pereira Martins[3]
Raquel Petrilli Eloy[4]

RESUMO

Os cristais líquidos liotrópicos (LLC), são misturas de moléculas anfifílicas e solventes que em determinadas condições de temperatura e pressão, podem apresentar diferentes agregados moleculares em fases lamelares, hexagonais e cúbicas. As propriedades físico-químicas aliadas às formulações de LLC torna-o apropriado para a veiculação tópica, favorecendo a veiculação eficiente de medicamentos em várias doenças de pele, como o câncer de pele. Sendo assim, este estudo tem como objetivo desenvolver, avaliar e caracterizar cristais líquidos nanodispersos com potencial aplicação no tratamento de câncer de pele, obtendo formulações inéditas e inovadoras capazes de controlar a liberação sustentada de fármacos para veiculação tópica. Foram construídos 5 diagramas de fases, baseados em estudos prévios com modificações, para avaliação da formação de cristais líquidos. Foram preparadas 45 formulações com as composições dos diagramas e após 24h de repouso foram caracterizadas por microscopia de luz polarizada. As formulações com ocorrência da anisotropia foram dispersas por ultrassom de haste a 20 kHz. As dispersões foram caracterizadas por espalhamento dinâmico de luz sendo avaliado tamanho, polidispersividade (PdI), potencial zeta e condutividade. A microscopia de luz polarizada mostrou indicativo de fases hexagonal e lamelar em duas formulações respectivamente, denominadas: formulação A apresentando tamanho nanométrico. Dentre as formulações preparadas com a modificação dos componentes da fase oleosa, apenas a formulação A com adição de Ácido Oleico e a formulação C com a adição de Óleo de Oliva obtiveram estruturas com características líquido cristalinas. As formulações com adição de Óleo de Girassol não tiveram a ocorrência de cristais líquidos. Com esses dados, é possível demonstrar que essas formulações possuem excelentes resultados nanométricos e poder de veiculação para a via tópica.

Palavras-chave: Cristais líquidos; câncer de pele; nanodispersões.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde, Discente, lorenaalima24@gmail.com[1]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde, Discente, leticiaaquino@aluno.unilab.edu.br[2]
Universidade Federal do Ceará (UFC), Instituto de Ciências da Saúde, Discente, jessica.r160@gmail.com[3]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde, Docente, petrilliraquel@unilab.edu.br[4]

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

O câncer de pele é a forma mais frequente de câncer no mundo. De maneira geral, esse câncer pode ser definido como um tecido tumoral formado por células da pele que sofreram modificações funcionais e, devido a isso, começaram a se multiplicar de forma desordenada e anormal, dando origem a um novo tecido denominado neoplasia (LOPEZ et al., 2006). Neste grupo os tipos mais comuns de câncer de pele, conhecidos como não-melanônicos incluem o carcinoma basocelular (CBS) e o carcinoma celular escamoso (SCC). Em sua maioria os tumores malignos não pigmentados são tratados com cirurgia, eletrodissecação, irradiação com laser, criocirurgia, quimioterapia e radioterapia. Dentre estes tratamentos, a cirurgia é a forma mais comum de tratamento, porém muitas vezes gera cicatrizes e perda da função do órgão (STRATIGOS et al., 2015). Dessa forma, o interesse por tratamentos mais efetivos e menos agressivos, capazes de serem associados aos tratamentos padrão e que possibilitem menores efeitos antiestéticos têm aumento. Neste sentido, o tratamento tópico é uma alternativa promissora que já demonstrou potencial aplicabilidade em diversos estudos e produtos comerciais (PETRILLI et al., 2018). A terapia fotodinâmica (PDT, do inglês photodynamic therapy) tem progredido nas últimas décadas como uma nova modalidade de tratamento clínico de várias patologias cutâneas. A PDT consiste na administração de um fármaco fotossensibilizante (FS) não tóxico, seja pela via sistêmica, local ou tópica. Resumidamente consiste no tratamento do tumor ou uma lesão, por exemplo, pela iluminação com luz visível em comprimento de onda adequado. A presença de oxigênio concomitante a exposição à luz visível de comprimento de onda adequado, leva a geração de espécies citotóxicas e consequentemente a morte celular e destruição tecidual, por processos de apoptose ou necrose (PRACA et al., 2012; PETRILLI et al., 2013a). Diferentes fotossensibilizadores podem ser utilizados. A cloro-alumínio ftalocianina (AlClPc) é um macrociclo tetrapirrólico com um átomo de alumínio central, que possui características favoráveis ao processo de fotossensibilização, tais como alto rendimento quântico de oxigênio singleto, elevada fluorescência com capacidade teranóstica e baixo custo. No entanto, moléculas de AlClPc são altamente hidrofóbicas, o que impede a administração destas diretamente devido à tendência a agregação em meio aquoso que reduz a eficácia fotodinâmica (LIANG et al., 2011; BONNETT, 2000). Além disso, visando o tratamento tópico de cânceres de pele a epiderme é a principal barreira à penetração de fármacos. De maneira geral, 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 (PETRILLI et al., 2013a). 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 (PRACA et al., 2012; PETRILLI et al., 2013a; FONSECA-SANTOS et al., 2016). Os cristais líquidos são definidos como o quarto estado da matéria que se forma entre sólido e líquido existente entre as fases cristalina e líquida, não são tóxicos e podem ser preparados sem o uso de materiais tóxicos. Eles são capazes de proteger as moléculas da droga contra degradação e fornecer um padrão de liberação sustentada (VALLAMKONDU et l., 2018). O arranjo das substâncias que compõem a formação da fase de cristal líquido pode influenciar na liberação e penetração cutânea de moléculas (PRACA et al., 2012). Os cristais líquidos liotrópicos, ou seja, independentes da temperatura e dependentes da concentração dos componentes são os mais utilizado se podem ser classificados em fase lamelar, fase hexagonal e fase cúbica (GUO et al., 2010). A fase hexagonal, por sua vez, consiste em estruturas cilíndricas infinitas nas quais compartimentos aquosos são separados por camadas de moléculas anfifílicas (fase hexagonal reversa) ou vice-versa (normal). Essas fases organizam-se em dois planos, ou seja, bidirecionalmente. Um gel transparente, bastante viscoso, isotrópico e termodinamicamente estável, na presença de excesso de água é característico da fase cúbica, a

ISSN: 2447-6161

qual possui arranjo tridimensional (SINGH, 2000; GUO et al.,2010). Ademais, tanto a fase lamelar quanto a fase hexagonal apresentam uma gama de texturas que podem ser facilmente identificadas usando um microscópio de luz polarizada. Neste sentido, uma etapa certamente desafiadora consiste no desenvolvimento de cristais líquidos bulk-phase (não nanodispersos) e suas nanodispersões, sendo de grande interesse obter formulações inéditas com potencial científico e tecnológico. A escolha dos componentes das formulações deve ser bastante criteriosa e considerar não-toxicidade, não-irritabilidade, capacidade de solubilização do fármaco a ser incorporado no sistema, assim como capacidade de formar o sistema desejado. (FORMARIZ et al., 2005; MORAIS et al.,2018).

OBJETIVO

Desenvolver, avaliar e caracterizar cristais líquidos e suas nanodispersões com potencial aplicação no tratamento de câncer de pele, obtendo formulações inéditas e inovadoras capazes de controlar a liberação sustentada de fármacos.

METODOLOGIA

As formulações produzidas foram formadas com o uso do diagrama de fases. Durante o desenvolvimento de um diagrama de fases, as propriedades dos triângulos equiláteros devem ser extremamente exploradas, ou seja, a soma dos lados perpendiculares de um determinado ponto no triângulo é igual a sua altura. Trata-se de um triângulo equilátero em que cada lado (dividido em dez partes correspondentes à composição centesimal de cada ponto) é representado por um doscomponentes da mistura. Nela, vértices do diagrama de fases (A, B, C) representam os componentes puros (DAMASCENO et al., 2011). Dependendo da concentração dessas moléculas em água e composição, formam-se agregados bem estruturados, tais como fases cúbicas, hexagonais ou lamelares. Foram utilizadas fase oleosa, tensoativo lipofílico e fase aquosa contendo tensoativo hidrofílico como vértices de um diagrama ternário em excesso de fase aquosa (Figura 1). Atrelado a isso, foram feitos 5 diagramas ternários baseados em estudos prévios com modificações, e produzidos no total 45 formulações (A-I). Ressalta-se que das 45 formulações, 18 foram produzidas com Monoleína e 27 com Phosal 50 PG. Ademais, com a fase oleosa devidamente pesada, os componentes foram aquecidos em banho-maria por 10 minutos e em seguida, agitados por 1 minuto no agitador de tubos. Ao final desse processo, a fase aquosa é pesada e adicionada sobre a fase oleosa, ao término as formulações foram deixadas em repouso por 24 h. Após esse processo as formulações devem ser passadas por caracterização físico- química em avaliação macroscópica e microscopia de luz polarizada. Para as formulações que apresentaram características líquido cristalinas (anisotropia) é feito o estudo em relação ao tamanho de partícula, polidispersividade (PdI) e o potencial zeta das nanodispersões de cristais líquido usando-se a técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS) em um aparelho Zetasizer NS90. Por fim, tendo a formulação selecionada com as melhores nanodispersões parte-se para a etapa de incorporação do fármaco Ftalocianina de Cloro Alumínio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o preparo de 18 formulações com monoleína foi evidenciado que esse óleo juntamente com os demais reagentes da formulação não formou sistemas líquido cristalinos. Por isso, para dar continuidade ao projeto,

ISSN: 2447-6161

foi feita uma alteração na composição das formulações retirando a monoleína e substituindo por Phosal 50 propilenoglicol (PG). Das formulações restantes 27 foram produzidas com o tensoativo Phosal 50 PG, entretanto apenas duas composições formaram anisotropia e estriações: a formulação A contendo Phosal 50 PG, fase aquosa composta por Poloxamer + PBS e fase oleosa formada por Ácido Oleico e formulação C contendo Phosal 50 PG, óleo de Oliva e fase aquosa contendo PBS + poloxamer. Sendo respectivamente, a primeira com fase hexagonal e a segunda com fase lamelar. Essas formulações foram selecionadas para caracterização físico-química para avaliação quanto ao seu tamanho, polidispersividade (PdI) pela técnica de DLS, potencial zeta e condutividade pelo potencial isoelétrico da partícula. Sabe-se que quanto menor o tamanho da partícula melhor será a penetração celular o que melhora a permeação de fármacos na pele. O índice de polidispersividade indica o quão homogêneo é o tamanho das nanopartículas, ou seja, as partículas são heterogêneas quanto mais próximas do valor de 1 e homogêneas quanto mais distante de 1. Já o potencial zeta mede a repulsão ou atração das cargas em partículas e afeta diretamente a estabilidade das amostras. Ademais, dentre as formulações trabalhadas ao longo do projeto de pesquisa, a formulação A obteve características de estrutura líquido cristalina de fase hexagonal e melhores valores de dispersão dinâmica da luz e condutividade (tamanho, polidispersividade, potencial zeta e condutividade), por isso, foi utilizada para a incorporação do fármaco AlCIPc, apresentando a seguinte caracterização microscópica com a formação de fase líquida cristalina hexagonal. Em relação às suas características físico-químicas, as amostras selecionadas foram nanodispersas e caracterizadas quanto ao seu tamanho, polidispersividade (PdI) e potencial zeta. As formulações A e C obtiveram o tamanho de partícula de aproximadamente 151,7 e 151,1 nm; PDI de aproximadamente 0,231 e 0,203; potencial zeta de -19,4 e - 30,03, respectivamente (tabela 1). .

CONCLUSÕES

Notou-se que a primeira composição produzida a partir de Monoleína, ácido oleico e fase aquosa contendo Tween 80 + água destilada não formou cristais líquidos. Por isso, foi feita a mudança da fase aquosa para Tampão PBS pH 7,4 em 1,5% de Poloxamer, entretanto, nas formulações produzidas com o reagente Monoleína, ao todo 18 formulações, ainda não era visualizado a ocorrência de anisotropia. Então, foi feita a substituição desse tensoativo para o Phosal 50 propilenoglicol (PG), usado em algumas formulações à base de lipídios para melhorar a absorção, eficácia e índice terapêutico dos ingredientes ativos. Dentre as formulações preparadas com a modificação dos componentes da fase oleosa, apenas a formulação A com adição de Ácido Oleico e a formulação C com a adição de Óleo de Oliva obtiveram estruturas com características líquido cristalinas, sendo respectivamente, a primeira com fase hexagonal e a segunda com fase lamelar. As formulações com adição de Óleo de Girassol não tiveram a ocorrência de cristais líquidos. Com esses dados, é possível demonstrar que essas formulações possuem excelentes resultados e poder de veiculação para a via tópica. Por fim, foi possível fazer a encapsulação do fármaco e validar pelo método analítico de quantificação da AlCIPc por espectrometria.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UNILAB por proporcionar o desenvolvimento desse projeto, ao laboratório CEDEFAR/Universidade Federal do Ceará por permitir a utilização de equipamentos e a Professora Raquel Petrilli por toda orientação ao longo do projeto. Este trabalho faz parte do projeto Desenvolvimento e

avaliação de cristais líquidos e suas nanodispersões com potencial aplicação para o tratamento de câncer de pele, cadastrado sob o número PVS1439-2021, a qual fui bolsista voluntária.

REFERÊNCIAS

BONNETT, R. Chemical Aspects of Photodinamic Therapy- Chlorins and Bacteriochlorins. In: ADVANCED CHEMISTRY TEXTS, **Chemical Aspects of Photodynamic Therapy**. London: Gordon and Breach Science Publischers, 2000. Capítulo 9, p. 176-197.

FONSECA-SANTOS, B. et al. Design, characterization, and biological evaluation of curcumin-loaded surfactant-based systems for topical drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 4553–4562, 2016.

GUO, C. et al. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 15,n. 23–24, p. 1032–1040, 2010. Disponível em: .

LIANG, Y. T.; YANG, Y. B.; LING, Y.; HUANG, Y. S.; LI, T.; LI, X. M. Improved therapeutic effect of folate-decorated PLGA-PEG nanoparticles for endometrial carcinoma, **Bioorganic & Medicinal Chemistry,** v. 19, p. 4057-4066, 2011.

LOPES, L. B. et al. Reverse Hexagonal Phase Nanodispersion of Monoolein and Oleic Acid for Topical Delivery of Peptides: in Vitro and in Vivo Skin Penetration of Cyclosporin A. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 6, p. 1332–1342, 25 maio 2006.

MORAES, C. et al. Development of lamellar gel phase emulsion containing baru oil (Dipteryx alata Vog.) as a prospective delivery system for cutaneous application. Asian **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 183–190, 2018. Disponível em:
.

PETRILLI, R. et al. Nanoparticles of Lyotropic Liquid Crystals: A Novel Strategy for the Topical Delivery of a Chlorin Derivative for Photodynamic Therapy of Skin Cancer. **Current Nanoscience**, v. 9, n. 4, p. 434–441, 2013b.

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, 1 maio 2016a. Disponível em: .

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. J**ournal of Biomedical Nanotechnology**, v.12, n. 5, p. 1063–1075, 1 maio 2016b. Disponível em:.

PETRILLI, Raquel et al. Skin cancer treatment effectiveness is improved by iontophoresis of EGFR-targeted liposomes containing 5-FU compared with subcutaneous injection. **Journal of controlled release**, v. 283, p. 151-162, 2018.

PRACA, F. et al. Liquid Crystal Nanodispersions Enable the Cutaneous Delivery of Photosensitizer for Topical PDT: Fluorescence Microscopy Study of Skin Penetration. **Current Nanoscience**, v. 8, p. 535–540, 1 set. 2012.

STRATIGOS, Alexander et al. Diagnosis and treatment of invasive squamous cell carcinoma of the skin: European consensus-based interdisciplinary guideline. **European journal of cancer**, v. 51, n. 14, p. 1989-2007, 2015.

SINGH, S. Phase transitions in liquid crystals. **Physics Reports**, v. 324, n. 3, p. 107–269, 2000.

VALLAMKONDU, J. et al. Liquid crystals: A novel approach for cancer detection and treatment. **Cancers**, v. 10, n. 11, 2018.

ISSN: 2447-6161