

# **Desenvolvimento de micropartículas contendo nanopartículas lipídicas por *spray drying***

*André Luiz Lopes Martins<sup>1</sup>, Stephânia Fleury Taveira<sup>2</sup>, Andrezza Furquim da Cruz<sup>2</sup>*

*Ricardo Neves Marreto<sup>3</sup>.*

Faculdade de Farmácia – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e Sistemas de Liberação de Fármacos - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO - Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: *Spray drying*; Nanopartículas lipídicas sólidas; Carreadores lipídicos nanoestruturados; Secagem

## **1 Introdução**

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) são sistemas constituídos por lipídeos sólidos sob temperatura ambiente e corporal (MULLER; MADER; GOHLA., 2000). As NLS, assim como os lipossomas, são sistemas biocompatíveis, mas seus processos de produção são mais simples e menos dispendiosos quando comparados aos processos de obtenção de lipossomas. O uso das NLS apresenta grande potencial para ampliar o controle da liberação e melhorar a retenção dos fármacos durante o armazenamento. Estabilidade física superior é outra vantagem das NLS quando comparadas às nanoemulsões e lipossomas (MALMSTEN, 2006; MEHNERT; MADER, 2001; MULLER; MADER; GOHLA, 2000).

Mais recentemente, o desenvolvimento de um sistema derivado das NLS, denominado “carreador lipídico nanoestruturado” (CLN) foi realizado com intuito de melhorar ainda mais a eficiência de encapsulação e a retenção do fármaco durante o armazenamento (WISSING; KAYSER; MULLER, 2004). A principal diferença entre as NLS e os CLN está na adição de um lipídio líquido aos últimos, resultando em uma estrutura mais desorganizada e capaz de reter os fármacos incorporados de forma mais eficiente.

As NLS e os CLN podem ser produzidos por diferentes técnicas, entre elas a homogeneização sob alta pressão (a quente ou a frio), diluição de microemulsão, preparo de emulsão múltipla, emulsificação/evaporação de solvente ou difusão de solvente (LIPPACHER; MULLER; MADER., 2001; MEHNERT; MÄDER, 2001). Seja qual for a técnica empregada, o produto resultante é uma dispersão aquosa que apresenta maior instabilidade microbiológica e química, portanto, existe grande interesse em secar esses produtos, de forma a obter suas contrapartidas sólidas. Produtos secos multiparticulados

\*Trabalho revisado pelo orientador

1 Orientando do curso de Farmácia da FF/UFG, e-mail para contato: [andre.luiz.l@gmail.com](mailto:andre.luiz.l@gmail.com)

2 Pós-Doutorandas do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e Sistemas de Liberação de Fármacos (FARMATEC), Faculdade de Farmácia – UFG

3 Orientador. Professor Adjunto da Faculdade de Farmácia – UFG. [ricardomarreto@farmacia.ufg.br](mailto:ricardomarreto@farmacia.ufg.br)

contendo NLS ou CLN podem ser obtidos por diferentes técnicas e posteriormente, incorporados em cápsulas, comprimidos ou pellets (FREITAS; MULLER, 1998).

O método de *spray drying* vem sendo utilizado como alternativa a outros processos de secagem como a rotaevaporação e a liofilização, devido principalmente a diminuição de custo (HANSEN; HOLM; SCHULTZ, 2004). Esse método divide-se basicamente em quatro etapas: (1) atomização ou divisão do líquido em pequenas gotículas; (2) contato das gotículas com uma corrente de ar aquecido; (3) secagem do material; (4) separação entre o produto seco e o ar de secagem (FREITAS; MULLER, 1998). Para a secagem de dispersões de nanopartículas é necessário adicionar adjuvantes de secagem para evitar que as nanopartículas se aglomerem e para aumentar rendimento da operação. O produto resultante da secagem é um material microparticulado constituído pela mistura entre o adjuvante de secagem e as nanopartículas. A qualidade desse produto depende da rápida redispersão das nanopartículas com mínima ou nenhuma alteração dimensional. Esse objetivo pode ser atingido através do acerto de parâmetros de formulação e da operação de secagem (HANSEN; HOLM, SCHULTZ, 2004). Micropartículas contendo nanopartículas redispersíveis apresentam grande potencial como sistema de liberação de fármacos para diferentes vias de administração, inclusive para a via oral (CHRISTENSEN; PEDERSEN; KRISTENSEN, 2000).

## **2 Objetivos**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da composição das nanopartículas lipídicas (tipo de lipídeo sólido, presença e concentração de óleo na matriz) sobre a redispersão das mesmas a partir de micropartículas obtidas pela técnica de *spray drying*.

## **3 Metodologia**

### *3.1 Materiais*

Os lipídeos sólidos, ácido esteárico e compritol<sup>®</sup> (mistura de mono, di e triglicerídeos do ácido behênico) foram adquiridos, respectivamente, da Vetec (Brasil) e Brasquim (Brasil). O ácido oléico, o taurodeoxicolato de sódio e a fosfatidilcolina de soja (Lecitina de soja, Lipoid 100) foram adquiridos da Sigma Aldrich (EUA) e da Gerbrás (Brasil). A água purificada foi obtida em sistema Mili-Q (Millipore, EUA). O manitol utilizado foi de grau farmacêutico.

### *3.2 Métodos*

### 3.2.1 Obtenção das nanopartículas lipídicas

Foram preparadas cinco formulações de nanopartículas pela técnica de diluição de microemulsão, conforme descrito por Souza et al. (2011). As NLS foram obtidas pela fusão do ácido esteárico ou compritol<sup>®</sup>, seguida da adição da mistura de tensoativos hidrofóbico (lecitina) e hidrofílico (taurodeoxicolato de sódio). Posteriormente, 750 µL de água ultrapurificada foram adicionados a mistura fundida que foi mantida sob agitação magnética e aquecimento até formação da microemulsão, confirmada por sua aparência visual translúcida ou transparente (LAWRENCE; REES, 2000). Formada a microemulsão, procedeu-se a etapa de diluição e precipitação, com a transferência lenta da microemulsão quente para um recipiente contendo 58 mL de água ultrapurificada, resfriada em banho de gelo (2 – 4°C). A mistura foi mantida sob cisalhamento em Ultra-Turrax T25 (IKA, Alemanha) a 13.400 rpm por 10 minutos. Para as formulações de CLN seguiu-se o mesmo procedimento com adição do óleo (ácido oléico) na etapa inicial de fusão do lipídio. Logo após preparadas e diluídas, essas formulações foram submetidas às determinações de tamanho médio, índice de polidispersividade (PDI) e potencial zeta, conforme descrito na seção 3.2.3. A composição das formulações está descrita na Tabela 1.

**Tabela 1** – Formulações de nanopartículas lipídicas sólidas e carreadores lipídicos nanoestruturados.

Formulação	Ácido Esteárico (% p/v)	Compritol (% p/v)	Ácido Oléico (% p/v)	Lecitina (% p/v)	Taurodeoxicolato de Sódio (% p/v)
NLS1	2,0	-	-	1,0	0,25
NLS2	-	2,0	-	1,0	0,25
CLN1	1,8	-	0,2	1,0	0,25
CLN2	1,5	-	0,5	1,0	0,25
CLN3	1,1	-	0,9	1,0	0,25

NLS – nanopartícula lipídica sólida; CLN – carreador lipídico nanoestruturado

### 3.2.2 Secagem das dispersões de nanopartículas por *spray drying*

Após o preparo das dispersões de nanopartículas, foi adicionado, como adjuvante de secagem, 10% (p/v) de manitol. Essas dispersões foram então submetidas à secagem por *spray drying* em secador da marca LM (mod. MSD 1.0, Brasil) operando em modo co-corrente. A concentração de nanopartículas na dispersão de secagem foi mantida fixa (2%). A temperatura de entrada e saída do ar de secagem foi de 120°C e 54°C, respectivamente. A taxa de alimentação da dispersão foi de 3mL/min, a vazão do ar de atomização foi de 30L/min e pressão de atomização foi de 3 bar. Amostras das micropartículas obtidas foram submetidas a

agitação em equipamento tipo vórtex por 5 minutos, no intuito de redispersar as nanopartículas lipídicas.

### 3.2.3 Caracterização das nanopartículas lipídicas

As nanopartículas recém-preparadas e redispersas foram submetidas à avaliação de sua distribuição de tamanho pela técnica de espalhamento dinâmico de luz, em equipamento ZetaSizer Nano (Malvern, UK) após diluição apropriada das amostras em água (1:100). A determinação do potencial zeta foi realizada pela medida da mobilidade eletroforética das partículas, utilizando equipamento ZetaPlus (Brookhaven,UK) após diluição das amostras (1:10) em solução de cloreto de potássio 10mM.

### 3.2.4 Análise estatística

A comparação entre os dados de tamanho e PDI das nanopartículas foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey, considerando o nível de significância  $p < 0,05$ .

## **4 Resultados e discussão**

Os valores de potencial zeta das formulações obtidas no presente trabalho estão apresentados na Tabela 2. Todas as nanopartículas apresentaram elevado potencial de superfície, o que indica a elevada estabilidade física desses sistemas. A carga negativa observada é função de sua composição química, que contém ácidos orgânicos, fosfolipídeos e sais biliares.

**Tabela 2** - Potencial zeta das nanopartículas lipídicas

<b>Formulação</b>	<b>Potencial Zeta (mV)</b>
<b>NLS1</b>	-38,82±1,42
<b>NLS2</b>	-40,98±0,99
<b>CLN1</b>	-38,45±1,64
<b>CLN2</b>	-46,28±1,72
<b>CLN3</b>	-48,73±1,67

O tamanho médio e o índice de polidispersividade (PdI) calculados para as formulações de NLS e CLN *in natura* (recém-preparada), após incorporação de manitol e após redispersão estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** – Tamanho médio e índice de polidispersividade das nanopartículas lipídicas *in natura* e após redispersão

Formulação	Tamanho (nm)			PdI		
	Preparo	Manitol	Redispersão	Preparo	Manitol	Redispersão
<b>NLS1</b>	171,84±10,09	180,09±9,06	419,56±126,2	0,185±0,02	0,185±0,02	0,616±0,05
<b>NLS2</b>	187,28±24,91	223,08±54,42	158,84±18,87	0,293±0,07	0,380±0,04	0,447±0,09
<b>CLN1</b>	165,38±2,83	183,68±3,72	166,88±37,12	0,177±0,01	0,247±0,03	0,472±0,07
<b>CLN2</b>	167,60±17,19	155,85±0,98	128,57±20,34	0,205±0,01	0,223±0,04	0,327±0,08
<b>CLN3</b>	178,00±14,01	178,67±8,25	160,13±33,55	0,245±0,02	0,247±0,03	0,322±0,11

Independentemente da composição, o método de diluição de microemulsão permitiu a obtenção de nanopartículas com tamanho médio entre 165 e 187 nm. Não houve diferença significativa entre esses valores ( $P > 0,05$ ). De forma similar, não foram observadas variações significativas no tamanho das nanopartículas após a incorporação de manitol às dispersões. No entanto, diferenças no tamanho médio foram observadas após a secagem e redispersão da formulação NLS1.

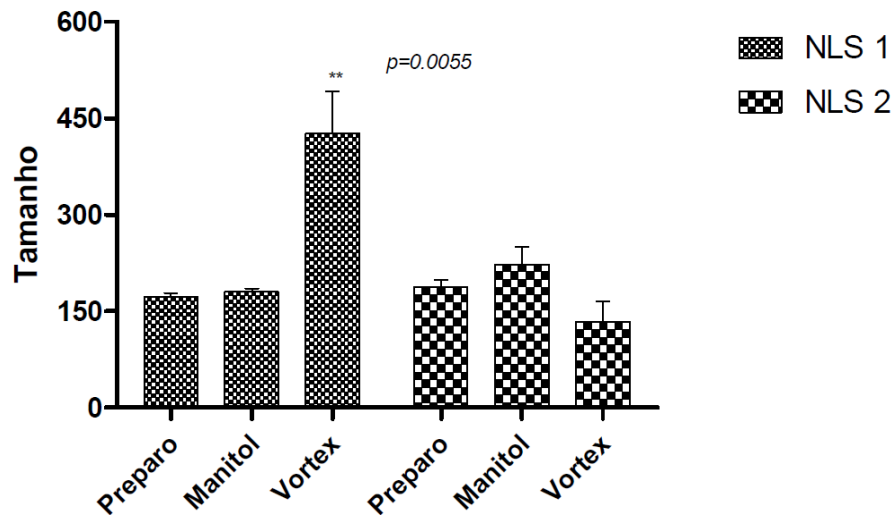
A Figura 1 mostra as diferenças entre o tamanho médio das amostras de NLS1 *in natura*, após incorporação de manitol e após redispersão (Figura 1A), assim como apresenta as diferenças no tamanho médio entre as diferentes formulações de CLN (Figura 1B).

O potencial zeta está intimamente ligado a estabilidade física das nanopartículas e as diferenças apresentadas na Tabela 2 podem explicar parcialmente a aglomeração e aumento de tamanho das nanopartículas da formulação NLS1. No entanto, o valor de potencial zeta dessa formulação (-38,82 mV) é superior ao valor considerado como indicador de boa estabilidade física (-30 mV) (Mehnert; Mader, 2001)

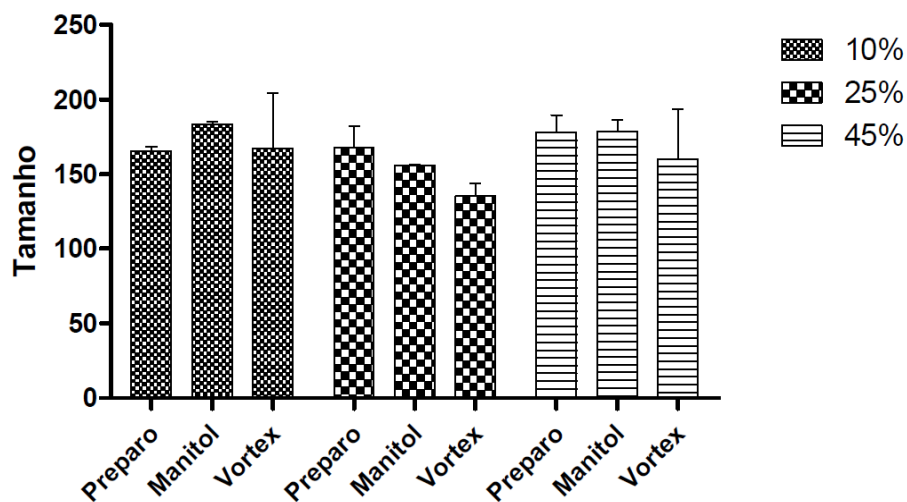
Dessa forma, dois outros fatores podem ajudar a explicar as alterações dimensionais observadas após a secagem por *spray drying*. O estresse térmico aplicado ao produto durante a secagem é um fator de grande relevância, pois a fusão ou mesmo o amolecimento dos lipídeos podem levar a intensa aglomeração das nanopartículas. Outro fator é o estresse mecânico relacionado ao processo de atomização do líquido. A ruptura das nanopartículas por ação da força de cisalhamento aplicada durante a atomização expõe novas superfícies, não revestidas com tensoativos, o que pode também levar a aglomeração das nanopartículas.

O reduzido ponto de fusão do ácido esteárico ( $\approx 54^{\circ}\text{C}$ ), lipídeo formador da matriz da NLS1, poderia adicionalmente explicar o aumento significativo no tamanho médio das

nanopartículas nessa formulação (Figura 1A). A fusão desse lipídeo ocorre em temperatura próxima à temperatura de saída do ar de secagem, que é proporcional a temperatura do produto durante a operação. No entanto, o tempo de residência do produto na câmara de secagem é bastante reduzido, sendo a exposição da ordem de poucos segundos (Kieviet; Kerkhof, 1995). Esse rápido contato com a fonte calorífica pode evitar a fusão e o amolecimento das nanopartículas.



1(A)



1(B)

**Figura 1** - Tamanho médio das nanopartículas lipídica sólida (NLS) e carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) *in natura*, após adição de manitol e após secagem e redispersão em vórtex por 5 minutos. 1(A) NLS; 1(B) CLN.

A inexistência de alterações no tamanho médio das CLN (Figura 1B) não corrobora a hipótese de que o estresse térmico é um dos responsáveis pelas alterações dimensionais observadas na NLS1, visto que a incorporação de óleo reduz o ponto de fusão dos sistemas e, portanto, era de se esperar alterações significativas no tamanho médio das CLN. Deve-se considerar que a CLN1 apresentou um valor de potencial zeta muito próximo ao observado para a NLS1 (Tabela 2), dessa forma, outro fator que não o potencial de superfície ou o estresse térmico deve ser levado em consideração para explicar o aumento no tamanho médio da NLS1.

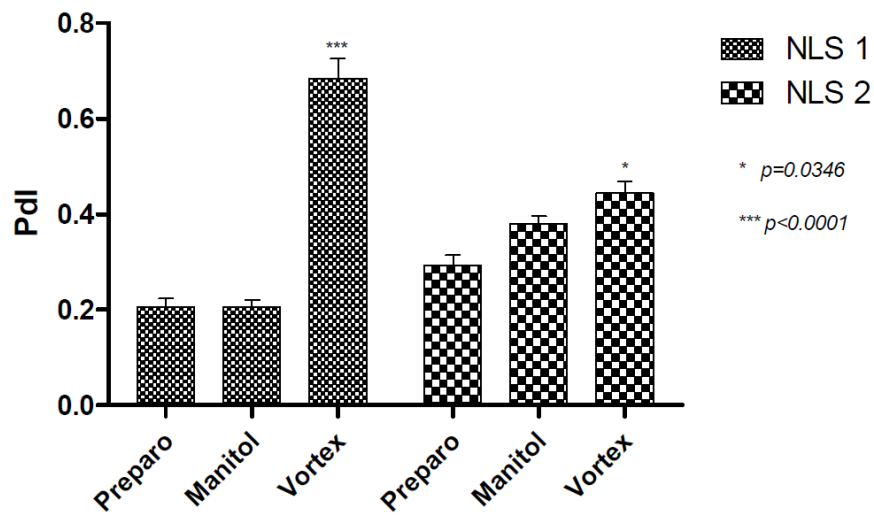
A presença de óleo na composição das nanopartículas (CLN) pode conferir maior elasticidade às mesmas e partículas mais elásticas podem apresentar menor susceptibilidade a ruptura durante a atomização e, portanto, podem apresentar menor tendência a aglomeração durante a operação de secagem. Esta é uma explicação plausível para o comportamento inesperado das CLN.

Por outro lado, o tamanho médio da NLS2 não foi alterado após a secagem dessa formulação (Figura 1A). Essa matriz, preparada com compritol ( $\approx 70$  °C), apresenta maior ponto de fusão e, provavelmente, menor elasticidade. No entanto, sua estrutura deve ser mais rígida quando comparada a matriz de ácido esteárico, o que preservou suas dimensões originais.

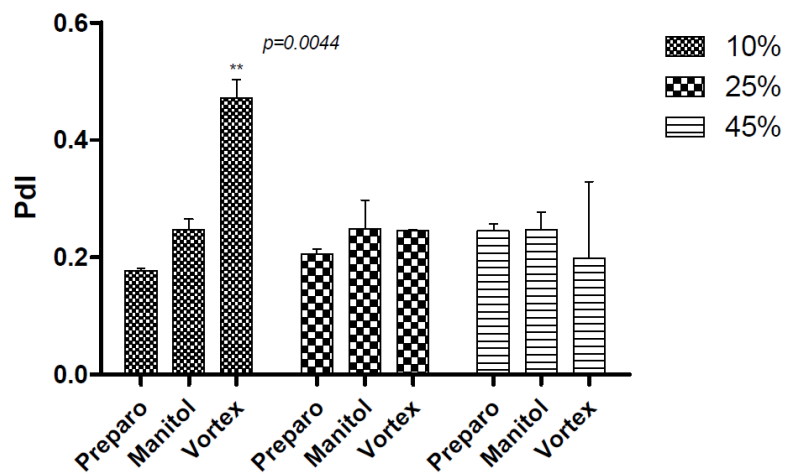
Os valores de PdI denotam o grau de uniformidade da distribuição de tamanho de uma determinada amostra. Valores de PdI elevados estão relacionados a distribuições pouco uniformes. A Figura 2 mostra a comparação entre os valores de PdI das NLS (Figura 2A) e das CLN (Figura 2B). O PdI das nanopartículas na formulação NLS1 sofreu aumento significativo após sua secagem, de acordo com o discutido anteriormente. Os valores de PdI da NLS2 (compritol) sofreram aumento significativo após sua secagem. Esse aumento pode estar relacionado a um determinado grau de ruptura das nanopartículas durante a atomização, o qual se mostrou insuficiente para alterar significativamente os valores de tamanho médio.

A Figura 2B mostra que apenas os valores de PdI da CLN1 (10% de óleo) sofreram alteração significativa após a secagem por *spray drying*. A explicação para essa observação pode estar na quantidade de óleo dessa formulação, que provavelmente proporcionou um aumento discreto na elasticidade do sistema.

As formulações contendo quantidades maiores de óleo (CLN2 e CLN3) não apresentaram nenhum tipo de alteração dimensional e os produtos nanoparticulados redispersos a partir de suas micropartículas se mostraram com a mesma qualidade dos produtos originais.



2(A)



2(B)

**Figura 2** – Valores de PdI das nanopartículas lipídica sólida (NLS) e carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) *in natura*, após adição de manitol e após secagem e redispersão em vórtex por 5 minutos. 2(A) NLS; 2(B) CLN.

## 5 Considerações Finais



No presente trabalho, a influência da composição lipídica sobre a integridade de nanopartículas durante sua secagem por *spray drying* foi determinada. A presença de quantidades mais elevadas de óleo na matriz lipídica sólida preservou as dimensões originais das nanopartículas secas e redispersas. Esse fato pode estar relacionado aos valores de potencial zeta e a maior elasticidade dos sistemas que contém maiores quantidades de óleo. Maior elasticidade resulta em maior resistência das nanopartículas frente às forças de cisalhamento geradas durante o processo de atomização. Nas condições de secagem avaliadas, não houve indícios de aglomeração ocasionada por estresse térmico. Outros estudos estão sendo conduzidos para determinar a influência da elasticidade sobre a integridade estrutural de nanopartículas lipídicas secas por *spray drying*.

### **Referências Bibliográficas**

CHRISTENSEN, K.L.; PEDERSEN, G. P.; KRISTENSEN, H. G. Technical optimisation of redispersible dry emulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 212, p.195-202, 2000

FREITAS, C.; MULLER, R. H. Spray-Drying of solid lipid nanoparticles (SLN<sup>TM</sup>). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.46, p. 154-151, 1998.

HANSEN, T.; HOLM, P. SCHULTZ, K. Process characteristics and compaction of spray-dried emulsions containing a drug dissolved in lipid. **International Journal of Pharmaceutics**, v.287, p.55-66, 2004.

KIEVIET, F.; KERKHOF, P.J.A.M. Measurements of particle residence time distributions in a co-current spray dryer. **Drying Technology**. v. 13, p. 1241–1248, 1995.

LAWRENCE, M.J.; REES, G.D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.45, p. 89-121, 2000.

LIPPACHER, A.; MÜLLER, R.H.; MÄDER, K. Preparation of semisolid drug carriers for topical application based on solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 214 (1-2), p. 9-12, 2001.

MALMSTEN, M. Soft Drug Delivery Systems. *Soft Master*. V. 2, p. 760-769, 2006.

MEHNERT, W.; MADER, K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 47, p. 165-196, 2001.

MULLER, R. H.; MADER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 50, p. 161-177, 2000.

SOUZA, L. G.; SILVA, E. J.; MARTINS, A.L.L.; MOTA, M. F.; BRAGA, R. C.; LIMA, E. M.; VALADARES, M. C.; TAVEIRA, S. F.; MARRETO, R. N. Development of topotecan loaded lipid nanoparticles for chemical stabilization and prolonged release. **European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceutics**. *In press*. 2011.

WISSING, S.A; KAYSER, O.; MULLER, R. H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p. 1257-1272, 2004.