

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS DE PLA CONTENDO DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO COM ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA

Isabela Motta Felício¹; Camila de Oliveira Melo²; Pablo Rayff da Silva³; Sonaly Lima Albino⁴; Elquio Eleamen Oliveira⁵

- (1) Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil. Email para contato: isabelanfelicio@gmail.com
- (2) Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil. Email para contato: camillamello-@hotmail.com
- (3) Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil. Email para contato: pablo-rayff@hotmail.com
- (4) Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas (PPGCF), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil. Email para contato: sonaly.albino@hotmail.com
- (5) Laboratório de síntese e vetorização de moléculas (LSVM), Universidade Estadual da Paraíba – Campus V, João Pessoa, Paraíba, Brasil. Email para contato: elquioeleamen@yahoo.com.br

Resumo: Os derivados espiro-acridínico são uma nova classe de moléculas derivadas do anel acridina que sofrem ciclização espontânea após sua síntese. Esses derivados apresentam excelente atividade anticancerígena e antiparasitária, mas seu uso na clínica está restrito devido à sua característica físico-química de alta lipofilicidade, causando insolubilidade em meio aquoso o que dificulta sua dissolução em meios biológicos. As nanopartículas (nanocápsulas e nanoesferas) de poli (ácido láctico) (PLA) podem superar essa baixa solubilidade do derivado em água, aumentar sua biodisponibilidade e direcionar o tratamento para tumores. Dessa forma, esse trabalho teve por objetivo a obtenção nanopartículas de PLA contendo o derivado espiro-acridínico AMTAC-01 pela técnica da nanoprecipitação. A caracterização das nanopartículas revelou um tamanho médio menor que 200 nm após encapsulação. A espectroscopia na região do infravermelho não revelou a presença de novos picos, indicando que o processo de nanoencapsulação do derivado não favorece nenhum tipo de interação que descaracterize o polímero utilizado e a difração de raios-X revelou um aspecto amorfo das partículas após encapsulação, indicando que o fármaco pode estar disperso molecularmente na matriz polimérica. Estes resultados preliminares indicam que de fato o fármaco está encapsulado nas nanocápsulas de PLA e seu estado amorfo após encapsulação indica alto potencial do derivado encapsulado na terapia contra o câncer com possível aumento de biodisponibilidade e possível acumulação em tumores.

Palavras-chaves: Sistemas de liberação, acridina, câncer.

1 INTRODUÇÃO

O câncer é um problema de saúde mundial caracterizado como uma doença complexa de caráter multifatorial, resultando em alterações, principalmente, no DNA e RNA. Segundo a organização mundial da saúde (2008) os, as cânceres, juntamente com o diabetes doenças cardiovasculares e crônicas, foram responsáveis por 40 milhões (70%) dos 56 milhões de mortes em 2015, mais de 40% das pessoas que morreram tinham menos de 70 anos. Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas.

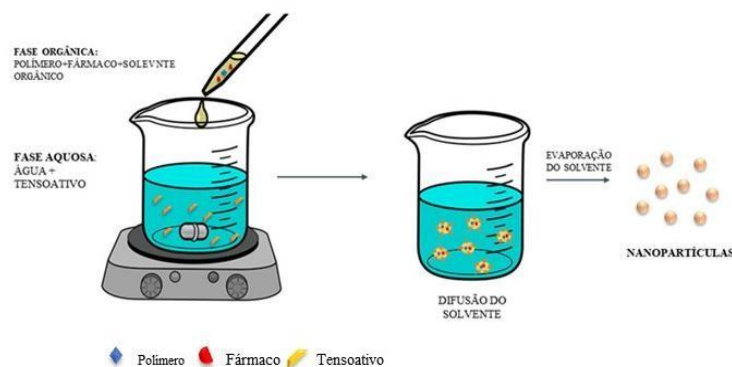
Os derivados de acridina são compostos amplamente estudados devido sua capacidade de regredir tumor (CHOLEWIŃSKI; DZIERZBICKA; KOODZIEJCZYK, 2011). As acridinas são estruturas heterocíclicas formadas por uma piridina central e dois benzenos condensados com propriedades farmacológicas antitumoral, antiparasitária e antibacteriana (SOUIBGUI et al., 2014). O derivado espiro-acridínico 3-(acridina-9-il)-*N*-benzidileno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01) foi sintetizado por ALMEIDA et al. (2016) apresentando forte interação com o DNA de linhagens de células tumorais e inibição de topoisomerase II α em ensaios *in vitro* apresentando atividade antiproliferativa promissora. Entretanto, esse derivado apresenta elevado coeficiente de partição (logP 5,11) tornando a molécula lipofílica, causando insolubilidade em água o que conseqüentemente dificulta sua dissolução em fluidos biológicos. Sistemas de liberação de fármacos em escala nanométrica, como as nanopartículas poliméricas produzidas a partir de polímeros biodegradáveis como o poli (ácido láctico) (PLA) apresentam vantagens como a capacidade de aumentar a solubilidade e a liberação sustentada de fármacos (RIVAS et al., 2017). Além disso, nanocápsulas são sistemas de escolha para encapsulação de ativos hidrofóbicos devido a atração do fármaco com as cadeias hidrofóbicas do óleo disperso no núcleo (SCHAFFAZICK; GUTERRES, 2003).

Assim, o objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de PLA contendo o derivado espiro-acridínico AMTAC-01 para terapia do câncer com possível acúmulo tumoral.

2 MATERIAIS E METÓDOS

As nanocápsulas foram obtidas pelo método da nanoprecipitação (FESSI et al., 1989) (figura 1).

Figura 1 - Representação esquemática do método da nanoprecipitação para obtenção de nanopartículas poliméricas



Fonte: Autor

Resumidamente, uma solução orgânica de acetona contendo AMTAC-01 (2 mg), miglyol 812® (100 mg), lipoid® (50 mg) e PLA (5mg/mL) foi adicionada gota a gota em 40 mL de uma solução aquosa contendo Pluronic F-68® 1 % (p/v) com velocidade de agitação de 1200 rpm. A suspensão de nanocápsulas foi deixada sob agitação por 20 minutos e depois a acetona foi removida utilizando evaporador rotatório (BUCHII). Do mesmo modo, as nanocápsulas de PLA branca (sem AMTAC-01) foram preparadas seguindo a metodologia descrita. As nanocápsulas foram liofilizadas por 24 horas em liofilizador de bancada (Alpha 1,2 plus, CHRIST – USA) para remoção do excesso de água da formulação.

As nanopartículas foram caracterizadas quanto ao seu tamanho médio hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta em equipamento Zetasizer (Nano ZS, Malvern). Os espectros de infravermelho (FTIR) do polímero, das nanocápsulas de PLA branca (NC BRANCA) e nanocápsulas de PLA carregadas com AMTAC-01 (NC AMTAC-01) foram analisadas em modo de atenuância refletância total (ATR) na faixa de varredura de 4000 a 700 cm^{-1} em espectrofotômetro de FTIR (SHIMADZU, Japão) e os difratogramas foram obtidos em difratômetro de Raios-X (D8 advanced, Bruker) com ângulo de varredura ao longo de 2θ variando de 5° a 70° com velocidade de $2^\circ/\text{min}$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As nanocápsulas foram obtidas com sucesso pelo método da nanoprecipitação, a adição do derivado diminuiu o tamanho médio das nanopartículas (tabela 1). O índice de polidispersão (P.D.I) manteve-se baixo ($<0,2$) indicando homogeneidade no tamanho das partículas formadas, a literatura recomenda que este parâmetro deve apresentar valores entre 0,01 e 0,5 (WU; ZHANG; WATANABE, 2011).

Tabela 1 - Propriedades físico-química das nanoaprtículas de PLA com e sem fármaco

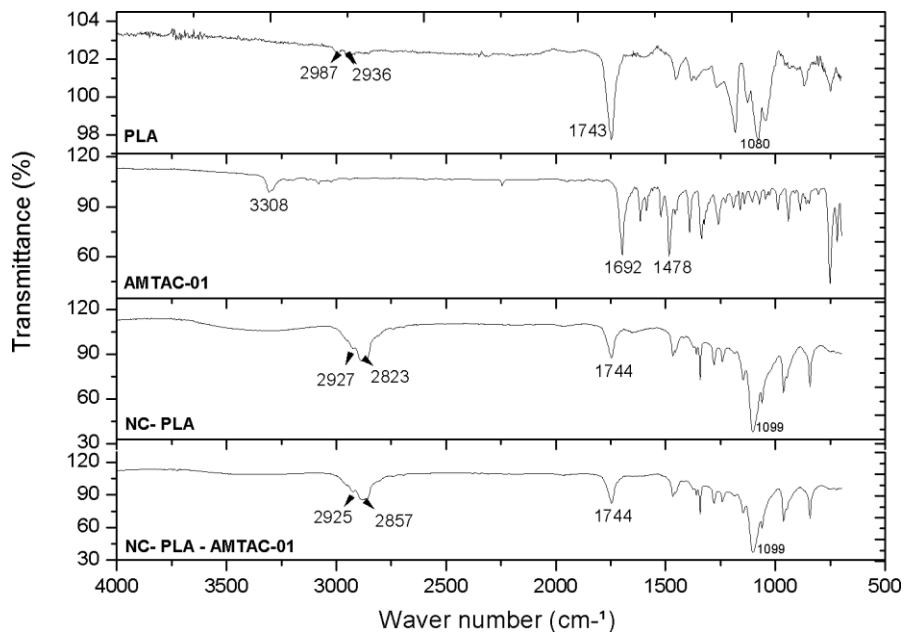
<i>Identificação</i>	<i>Tamanho médio (nm)</i>	<i>P.D.I</i>	<i>Potencial zeta (mV)</i>
NC BRANCA	208,4 ($\pm 0,17$)	0,129 ($\pm 0,05$)	-16,9 ($\pm 0,02$)
NC AMTAC-01	183,8 ($\pm 0,95$)	0,130 ($\pm 0,01$)	-29,4 ($\pm 0,03$)

Fonte: Autor

O potencial zeta apresentou-se negativo nas nanoesferas e nanocapsulas de PLA devido a presença de grupos carboxílicos terminais do polímero e dos agentes estabilizadores não- iônico (MORA-HUERTAS et al., 2012; BHATTACHARJEE, 2016). A presença do derivado espiro-acridínico diminuiu o potencial zeta das nanopartículas nos dois métodos, esse efeito pode ser explicado pela maior interação das cadeias hidrofóbicas do polímero com o fármaco, além disso a adição da lecitina, um fosfolipídio aniônico pode ter contribuído para o valor negativo do potencial zeta das nanocápsulas (CHUACHAROEN; SABLIOV, 2016).

Os espectros dos componentes isolados (derivado e polímero) e as nanocápsulas antes e após encapsulação estão ilustradas na figura 2.

Figura 2 - Análise de FT-IR do PLA, AMTAC-01, NC-PLA e NC-PLA-AMTAC-01



Fonte: Autor

No espectrograma de FT-IR do PLA foi observado picos entre 3000 e 2938 cm⁻¹ que foram atribuídos a vibrações de CH de carbono *sp*³ de hidrocarbonetos presentes na estrutura do polímero (DI MARTINO; SEDLARIK, 2014; ANTUNES et al., 2017), em 1745 cm⁻¹ temos o pico característico de estiramento C=O de ésteres alifáticos (KUMARI et al., 2010) e em 1180 e 1080 cm⁻¹ temos o pico sugestivo de ligação C-O-C e C-O de éster, respectivamente.

Analisando o espectro do derivado foi possível observar as bandas de absorções características do AMTAC-01 como descrito na literatura (ALMEIDA et al., 2016) a presença de um pico de 3308 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento NH de amida secundária, em 1692 cm-

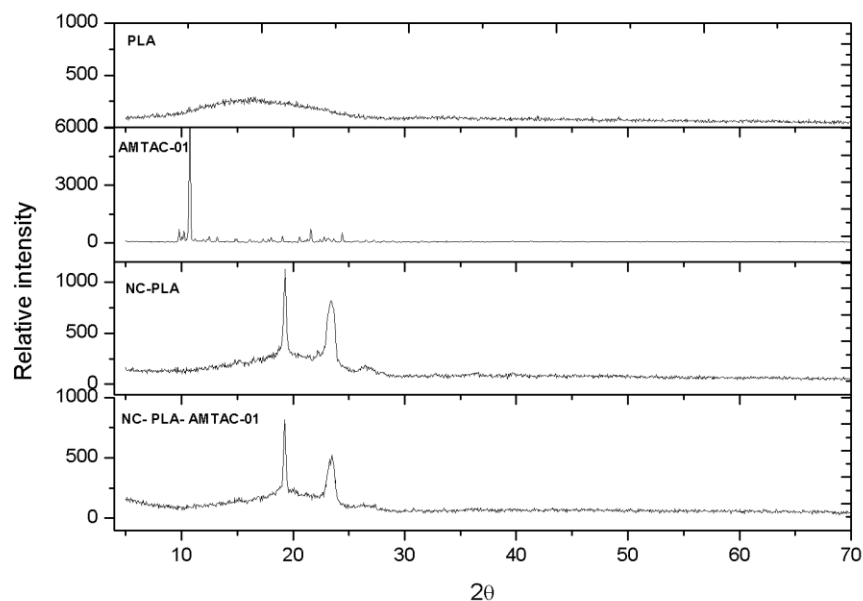
¹ observa-se o pico correspondente ao estiramento C=O presente na estrutura do fármaco e em 1478 cm⁻¹ o pico característico de absorção de estiramento C=C de anel aromático, respectivamente.

O espectro da NC-PLA e NC-PLA-AMTAC-01 foram bastante semelhantes, o espectro das nanopasulas contendo o AMTAC-01 apresentou picos característicos do polímero e picos do óleo utilizado na formulação (Miglyol[®] 812) na região de 3000 a 2600 cm⁻¹. Butstraen e Salaün (2014) atribuíram a presença de absorções em 2927 e 2823 cm⁻¹ a picos de vibração do estiramento C-H de cadeia alifática

simétrica e assimétrica presentes no miglyol, o pico sugestivo de grupamento C=O de éster de triglicerídeo e do polímero aparece sobreposto em 1744 cm^{-1} . Já os picos referentes ao estiramento C-O e C-O-C do polímero e do óleo aparecem sobrepostos em 1099 cm^{-1} , simultaneamente.

O difratograma do PLA (figura 3) apresentou halo largo entre 10° e 25° característico do estado amorfo do polímero (ANTUNES et al., 2017). O difratograma do AMTAC-01 apresentou picos intensos em aproximadamente $9^\circ, 10^\circ, 21^\circ$ e $24,4^\circ$ característicos do estado cristalino do fármaco. O perfil de DRX das nanocápsulas brancas e contendo o AMTAC-01 apresentou picos em 19° e 23° que podem estar associados a presença do pluronic aderido à superfície das nanocapsulas devido a uma maior disposição de grupos carboxílicos do polímero (TAVARES et al., 2017).

Figura 3 - Difratogramas do PLA, AMTAC-01, NC-PLA e NC-PLA-AMTAC-01



Fonte: Autor

Uma das aplicações das nanopartículas poliméricas em sistemas de entrega de fármacos é a melhora da solubilidade de compostos poucos solúveis em água. As nanopartículas amorfas apresentam como vantagem mecanismos sinérgicos de aumento da taxa de dissolução e aumento da taxa de solubilidade (JOG;BURGESS, 2017).

4 CONCLUSÕES

O método da nanoprecipitação foi satisfatório para produção de nanocápsulas de PLA contendo o derivado espiro-acridínico AMTAC-01. A caracterização físico-química das nanocápsulas através da análise de FT-IR revelou que o processo de encapsulação do derivado não favorece a formação de novas ligações químicas e a análise de DRX mostrou que o fármaco apresenta-se num estado não cristalino ou disperso molecularmente nas nanocápsulas poliméricas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio do centro de tecnologias do Nordeste (CETENE) pelas análises de DRX, ao laboratório escola de farmácia industrial (LEFI-UFRN) pelas análises de FTIR e ao laboratório de sistemas dispersos (LASID-UFRN) pela disposição do espaço físico e equipamentos para caracterização do sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. M. V. de; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, W. L.; LIMA SERAFIM, V. de; MENEZES, T. M.; NEVES, J. L.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E. de; MOURA, R. O. de; BELTRÃO, E. I. C.; CARVALHO JÚNIOR, L. B. de; LIMA, M. do C. A. de. New spiro- acridines: DNA interaction, antiproliferative activity and inhibition of human DNA topoisomerases. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 467–475, 2016.

ANTUNES, R.; ANTÔNIO, E.; MAINARDES, R. M.; KHALIL, N. M. Preparation, physicochemical characterization and antioxidant activity of diphenyl diselenide-loaded poly (lactic acid) nanoparticles. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 39, p. 176–185, 2017.

BHATTACHARJEE, S. Review article DLS and zeta potential – What they are and what they are not ? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.

CHOLEWIŃSKI, G.; DZIERZBICKA, K.; KOODZIEJCZYK, A. M. Natural and synthetic acridines / acridones as antitumor agents : their biological activities and methods of synthesis. **Pharmacological Reports**, p. 7–12, 2011.

CHUACHAROEN, T.; SABLIOV, C. M. Stability and controlled release of lutein loaded in zein nanoparticles with and without lecithin and pluronic F127 surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 503, p. 11–18, 2016.

DI MARTINO, A.; SEDLARIK, V. Amphiphilic chitosan-grafted-functionalized polylactic acid based nanoparticles as a delivery system for doxorubicin and temozolomide co-therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 474, n. 1–2, p. 134–145, 20 out. 2014.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55, n. 1, p. 1–4, 1989.

JOG, R.; BURGESS, D. J. **Pharmaceutical Amorphous Nanoparticles** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; PAKADE, Y. B.; SINGH, B.; YADAV, S. C. Development of biodegradable nanoparticles for delivery of quercetin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 80, n. 2, p. 184–192, 2010.

MORA-HUERTAS, C. E.; GARRIGUES, O.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Nanocapsules prepared via nanoprecipitation and emulsification-diffusion methods: Comparative study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 1, p. 235–239, 2012.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S. CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE SISTEMAS POLIMÉRICOS NANOPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 9, 2003.

SOUIBGUI, A.; GAUCHER, A.; MARROT, J.; BOURDREUX, F.; ALOUI, F.; BEN HASSINE, B.; PRIM, D. New series of acridines and phenanthrolines: Synthesis and characterization. **Tetrahedron**, v. 70, n. 18, p. 3042–3048, 2014.

TAVARES, M. R.; MENEZES, L. R. de; DUTRA FILHO, J. C.; CABRAL, L. M.; TAVARES, M. I. B. Surface-coated polycaprolactone nanoparticles with pharmaceutical application: Structural and molecular mobility evaluation by TD-NMR. **Polymer Testing**, v. 60, p. 39–48, 2017.

WU, L.; ZHANG, J.; WATANABE, W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 6, p. 456–469, 2011.