

# Avaliação da contribuição de copolímero de bloco PEG/PPG na estabilidade coloidal de nanocarreadores

*Evaluation of block copolymer PEG/PPG for nanocarrier Colloidal Stability*

Thais Aragão Horoiwa<sup>a\*</sup>, Adriano Marim Oliveira<sup>a</sup>,  
Natália Pereira Neto Cerize<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Processos Químicos e Tecnologia de Partículas, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

<sup>b</sup> Laboratório de Biotecnologia Industrial, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

\*E-mail: thaisara@ipt.br

Palavras-chave: nanocarreador polimérico coloidal; copolímero de bloco de polietileno glicol/ polipropileno glicol; sistema de liberação controlada.

*Keywords:*

*polymeric colloidal nanocarrier; polyethylene glycol/ polypropylene glycol block copolymer; controlled drug release*

## Resumo

Nanocarreadores poliméricos coloidais (NPC) têm sido estudados para aplicação como sistemas de veiculação controlada de fármacos. São preparados em duas etapas: formação de nanoemulsão água/ óleo em homogeneizador de alta pressão seguido pela extração da fase interna aquosa para obtenção de uma nanodispersão anidra. Copolímeros de bloco que formam micelas como o polietileno glicol/ polipropileno glicol (PEG/PPG) apresentam-se como uma alternativa interessante para incorporação na matriz encapsulante desses NPC devido a sua facilidade de solubilização e sua biocompatibilidade com sistemas biológicos. Neste trabalho, estudou-se a influência da adição do copolímero PEG/PPG na estabilidade dos NPC dispersos em silicone. A comparação da estabilidade cinética do NPC contendo copolímeros PEG/PPG e NPC sem copolímero PEG/PPG demonstrou que esse copolímero melhora a estabilidade cinética dos NPC em silicone, mostrando-se como alternativa para modificação e melhoramento da matriz encapsulante. Os nanocarreadores obtidos contendo o copolímero apresentam aspecto branco, opaco e fluido, com distribuição de tamanho de partícula na faixa de 260 nm a 280 nm de diâmetro, com índice de polidispersão de 0,07 e morfologia esférica.

## Abstract

*Polymeric Colloidal Nanocarriers (PCN) have been studied as controlled drug release systems. They are mainly prepared in two steps: water/oil nanoemulsion under a high pressure homogenizer followed by aqueous internal phase extraction for obtaining an anhydrous nanodispersion. Block copolymers which form micelles such as*

*polyethylene glycol / polypropylene glycol (PEG / PPG) are presented as an interesting alternative for the incorporation in the encapsulating matrix of these PCN due to their ease of solubilization and their biocompatibility with biological systems. In this work, the PEG/PPG copolymer contribution on the stability of PCN dispersed in silicone was studied. The comparison of the kinetic stability of PCN with and without PEG/PPG copolymer demonstrated that this copolymer improves the kinetic stability of these PCN in silicone, allowing a matrix modifier alternative. The obtained nanocarriers with the copolymer showed a white opaque fluid aspect with uniform size distribution of particles with 260 nm to 280 nm mean diameter, with a polydispersity index of 0.07 and a spherical shape.*

## 1 Introdução

Os sistemas nanoestruturados são uma tecnologia relativamente nova que surgiu a partir da evolução da tecnologia da microencapsulação como estratégia para compartimentalização de substâncias dentro de estruturas que isolam e protegem os ativos das degradações que por ventura possam sofrer frente às condições estressoras do meio, tais como variação de temperatura e presença de oxigênio (OLIVEIRA, 2008; PIMENTEL et al., 2007).

Atualmente, além de proteger os fármacos dos agentes estressores do meio, os sistemas nanoestruturados se apresentam como uma alternativa para o desenvolvimento de novas formulações, uma vez que podem alterar as características físico-químicas das substâncias através da encapsulação por materiais específicos, os quais são escolhidos de forma racional com foco nas peculiaridades dos mecanismos de liberação e ação de cada fármaco em seus sítios de ação farmacológica, de maneira que ativos farmacológicos, que antes possuíam limitações para uso em formulações tópicas devidas às suas características físico-químicas, hoje, podem ser incorporados a um sistema nanoestruturado que permita sua utilização por meio desta via de aplicação mais acessível e segura para os pacientes.

As patentes WO 2011156880 A1, depositada por Cerize et al. (2011) e a BR102016003443 4, depositada pelo Instituto de Pesquisas Tecnológica (2016), descrevem o processo de produção de nanocarreadores poliméricos coloidais (NPC) para encapsulação de ativos hidrofílicos. Esses sistemas são uma proposta inovadora para nanoencapsulação de ativos hidrofílicos em que se utiliza um polímero hidrofílico como agente de revestimento, ou formador de matriz, envolto por uma fase não hidrofílica e tensoativos que possuam atração pelos componentes da formulação, formando uma emulsão inversa (CERIZE et al., 2011).

Os nanocarreadores poliméricos coloidais permitem a incorporação e veiculação controlada de ativos hidrofílicos, conferindo-lhe propriedades como proteção contra processos de degradação, melhoria da compatibilidade com os outros constituintes da formulação do produto final, aumento da disponibilidade e/ou biodisponibilidade do ativo para o meio de interesse (incluindo melhorias em processos de permeação em materiais biológicos, redução da exposição e volatilização do ativo para o meio e liberação controlada do(s) ativo(s)) (CERIZE et al., 2011).

O processo para obtenção desses sistemas envolve a nanoemulsificação de uma fase aquosa de polímeros hidrofílicos emulsificados em uma fase não hidrofílica (lipofílica ou silofílica) contendo o tensoativo e uma fase de extração parcial do conteúdo de água da fase interna. Esse processo gera partículas nanoestruturadas poliméricas que permitem a veiculação de moléculas hidrofílicas suspensas em uma fase não hidrofílica, passível de controle de tamanho de partícula em escala nanométrica e de modulação da estabilidade coloidal por meio dos parâmetros de processo como tipo de emulsificantes e polímeros utilizados, pressão utilizada na homogeneização e tempo de extração de água do sistema (CERIZE et al., 2011).

Copolímeros de bloco que formam micelas como o polietilenoglicol/polipropilenoglicol (PEG/PPG) apresentam-se como uma alternativa interessante para incorporação na matriz encapsulante desses NPC devido a sua facilidade de solubilização e sua biocompatibilidade com sistemas biológicos (GRALLERT, 2012). Esses copolímeros possuem uma molécula anfifílica composta por uma cabeça hidrofílica (PEG) e uma cauda hidrofóbica (PPG) que pode ser utilizado como surfactante não iônico (BASF, 2004).

Essa estrutura molecular confere ao copolímero PEG/PPG a propriedade de formação de micelas, o que possibilita seu uso como um emulsificante do tipo não iônico para estabilização de emulsões (GRALLERT, 2012). Visto essa propriedade, propôs-se que esse insumo seria uma boa escolha para aplicação na estabilização do NPC dispersos no silicone. Sendo assim, este trabalho buscou estudar a influência da adição do copolímero PEG/PPG na estabilidade dos NPC suspensos em silicone.

## 2 Procedimento Metodológico

### 2.1 Processo dos nanocarreadores poliméricos coloidais

O preparo dos NPC segue protocolo descrito na patente nº WO 2011156880 A1 no qual são apresentadas três etapas de processo: pré-emulsificação, nanoemulsificação e extração de água da fase aquosa.

Na pré-emulsificação uma fase aquosa contendo os polímeros encapsulantes, incluindo o copolímero PEG/PPG (Sigma) e cloreto de sódio (Dinamica), devidamente solubilizados, foi misturada, com auxílio de agitação mecânica, a uma fase silofílica constituída de um silicone fluído (polidimetilsiloxano – D'Altomare) e um emulsificante de silicone (SF1540®\_ Momentive). As formulações processadas seguem detalhadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Formulações NPCs processadas. Dados expressos em porcentagem em massa.

ID	Fase aquosa				Fase silofílica		
	Maltodextrina (%)	Copolímero (%)	NaCl (%)	H <sub>2</sub> O (%)	Enulsificante (%)	Silicone (%)	qsp (%)
NPC_4 % PEG/PPG	5	4	0,4	21	SF1540	10	100
NPC_sem copolímero	5	-	0,4	25	SF1540	10	100

Fonte: elaboração própria.

Para formação da nanoemulsão, a pré-emulsão preparada foi processada em um homogeneizador de alta pressão (Homogenizer Invensys APV, Model 2000APV) a uma pressão controlada entre 500 bar a 1200 bar, em ciclos contínuos (de 5 a 8).

A nanoemulsão obtida na etapa anterior foi colocada em reator encamisado, aquecido a uma temperatura de 50 °C. Posteriormente, o sistema foi submetido a vácuo e agitação moderada entre 300 rpm a 500 rpm, conectado a um condensador para extração da água contida na fase interna da nanoemulsão e formação dos NPC. Esse processo é esquematizado na **Figura 1**.

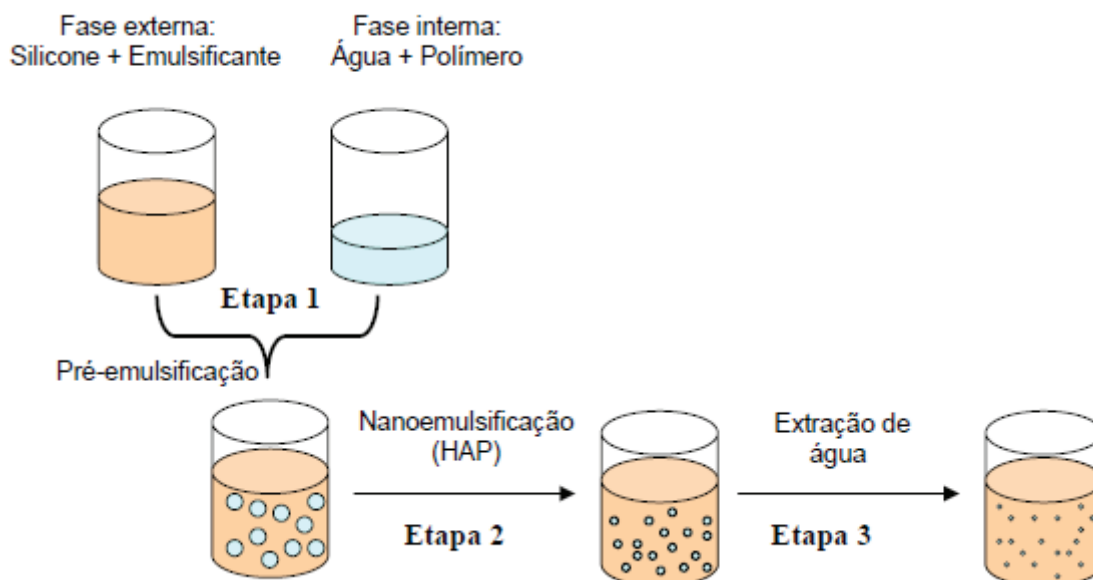


Figura 1 – Etapas de preparo dos NPC.

Fonte: Cerize (2012).

## 2.2 Análises morfológicas dos NPC por MEV

Para caracterização morfológica dos NPC, utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV) com emissão de elétrons por efeito de campo (em inglês *FEG-SEM*, modelo Quanta 3D, FEI).

Antes da visualização no MEV, as amostras foram lavadas a fim de retirar o silicone da fase externa do sistema para melhor visualização das partículas no microscópio. A metodologia, consistiu na suspensão de uma massa reduzida de formulação (aproximadamente 20 mg) em ciclohexano (2,5 mL); filtração da suspensão empregando membranas de éster de celulose de 0,22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro sob vácuo; lavagem com mais três porções de 2,5 mL do mesmo solvente e posterior secagem das membranas em dessecador a vácuo por no mínimo 24 h. A membrana contendo as partículas de nanocarreadores recuperadas e secas foi colocada em fita de cobre e recoberta com ouro, por meio de metalização em *sputter* com alvo de ouro por 140 s. A fita de cobre contendo as partículas recobertas com ouro foi então colocada no interior da câmara do MEV com o qual se conseguiu obter imagens dos nanocarreadores com aumentos de até 150 000 x, operando o sistema sob alto vácuo e uma voltagem de 20 kV.

## 2.3 Tamanho e polidispersidade da partícula

A determinação do tamanho das partículas produzidas foi realizada empregando-se a técnica de "*Photon Correlation Spectroscopy – PCS*", utilizando equipamento NanoSizer da Malvern.

Para a medida, cerca de 10 mg de amostras foi dispersa em 1 g de uma mistura de 2 % de Silform60-A disperso em silicone volátil SF1202. Foram realizadas três leituras consecutivas, empregando o índice de refração e viscosidade do meio de dispersão (índice de refração: 1,396 cP e viscosidade: 4,10 cP), sendo que os resultados apresentados são uma média das leituras realizadas.

## 2.4 Estabilidade cinética por turbidimetria dinâmica

O monitoramento da estabilidade cinética, avaliado pelo índice de Turbiscan (TSI), foi realizado durante um período de 4 dias a cada 1 h de intervalo, à temperatura de 25 °C, em um analisador óptico Turbiscan® Modelo LAB Expert, cujo princípio de funcionamento baseia-se na incidência de uma luz com comprimento de onda fixo, de 850 nm, sobre um tubo de vidro cilíndrico contendo a amostra, fazendo-se uma varredura a cada 40  $\mu\text{m}$ , verticalmente, no sentido ascendente e descendente, desde a parte inferior até a parte superior do tubo cilíndrico.

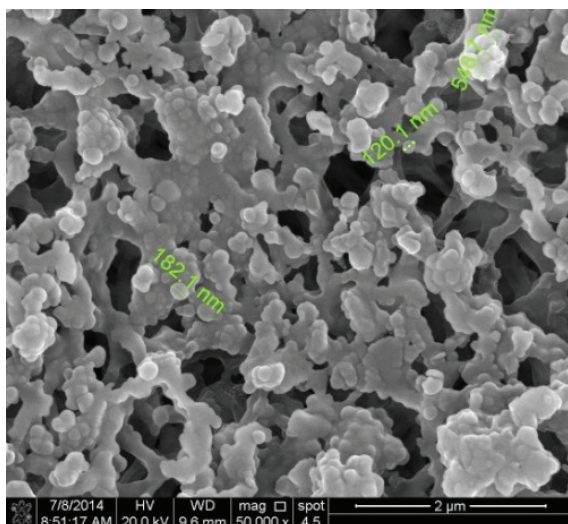
### 3 Resultados e discussão

Os sistemas de NPC, tanto os contendo copolímero, quanto os que não contêm copolímero, apresentaram aspecto de uma dispersão fluída, branca, leitosa como apresentado na **Figura 2**.



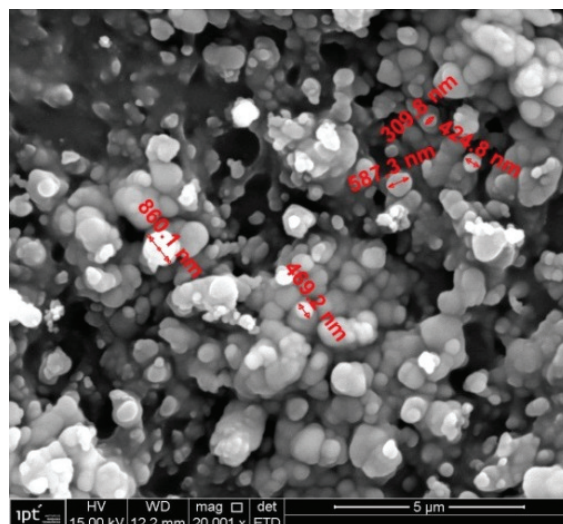
**Figura 2** - Aspecto visual da NPC.  
Fonte: elaboração própria.

O aspecto morfológico das partículas obtido por microscopia eletrônica de varredura (MEV) é apresentado na **Figura 3** e na **Figura 4**. Para as duas formulações observaram-se aglomerados de partículas esféricas, sendo que as partículas da amostra NPC\_4 % PEG/PPG (**Figura 3**) apresentavam tamanho da ordem de grandeza de 100 nm enquanto que a amostra NPC\_sem copolímero (**Figura 4**) apresentava tamanho de partículas disperso desde 300 nm a 800 nm.



**Figura 3** - Imagem de microscopia da amostra contendo copolímero (NPC\_4 % PEG/PPG).

Fonte: elaboração própria.



**Figura 4** - Imagem de microscopia da amostra sem copolímero (NPC\_sem copolímero).

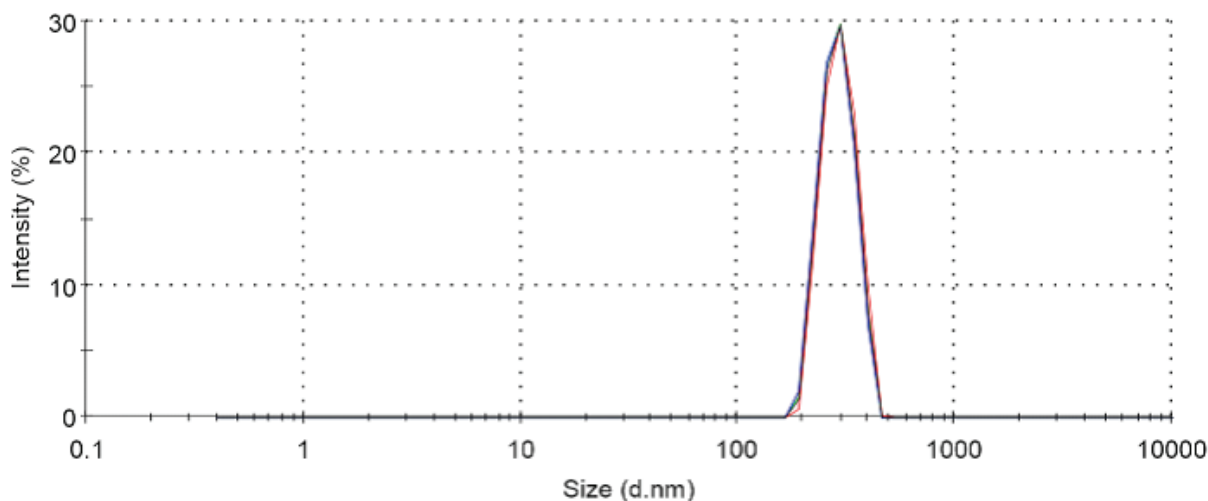
Por sua vez, os resultados de tamanho de partícula e índice de polidispersidade (PDI), apresentados na **Tabela 2**, na **Figura 5** e na **Figura 6** reforçam que a formulação de NPC contendo 4 % de copolímero PEG/PPG (NPC\_4 % PEG/PPG) produz uma dispersão de partículas com polidispersidade (PDI = 0,073) menor que a formulação sem adição de copolímeros (NPC\_sem copolímero) que apresentou PDI de 0,151.

**Tabela 2 – Resultados de tamanho e índice de polidispersidade.**

ID	Tamanho (nm)	PDI
NPC_4 % PEG/PPG	281	0,073
NPC_sem copolímero	262	0,151

Fonte: elaboração própria.

As curvas de distribuição granulométrica apresentam a diferença na polidispersão das partículas. Para a amostra contendo copolímero (NPC\_4 % PEG/PPG - **Figura 5**) observa-se a sobreposição perfeita das curvas de distribuição das três análises consecutivas da amostra enquanto que, para a amostra sem o copolímero (**Figura 6**), o perfil de distribuição altera-se entre as análises, evidenciando que a amostra com copolímero se mantém mais estável durante o período da análise.



**Figura 5 – Distribuição granulométrica do NPC com 4 % de copolímero PEG/PPG.**

Fonte: elaboração própria.

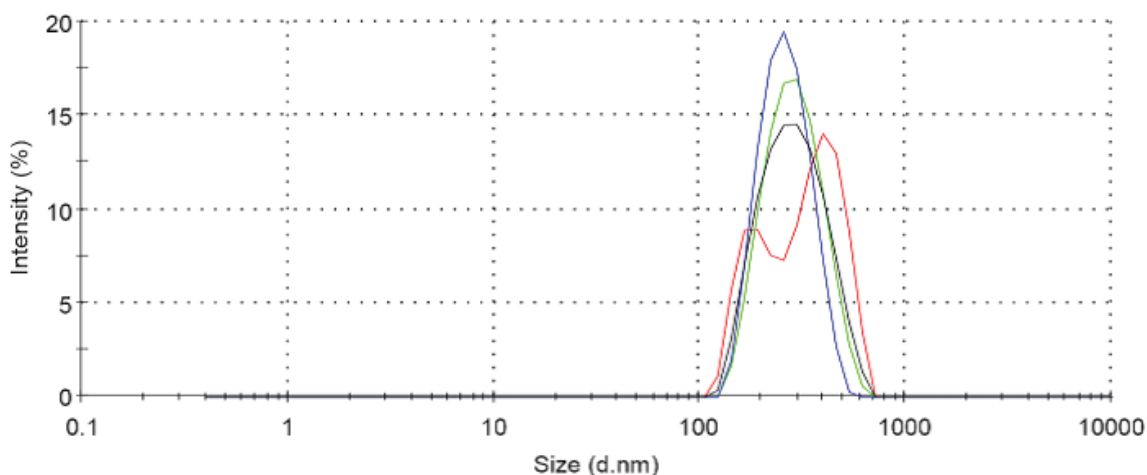


Figura 6 – Distribuição granulométrica do NPC sem copolímero.

Fonte: elaboração própria.

O resultado do ensaio de estabilidade cinética é apresentado na Figura 7 na qual se observa que a amostra com 4 % de copolímero (NPC\_4 % PEG/PPG - curva vermelha) apresenta TSI menor após 24 h de análise (TSI 1 dia = 6,2; TSI 3 dias = 11,7). Já a amostra sem copolímero (NPC\_sem copolímero - curva azul), embora apresente variação do TSI menor até o primeiro dia de análise (TSI 1 dia = 5,8), demonstra tendência de crescimento exponencial do índice de Turbiscan após 2 dias de análise, apresentando TSI igual a 20,1 no terceiro dia de análise, maior do que a amostra com 4 % PEG/PPG. Esses resultados indicam que utilizar 4 % de copolímero na estruturação dos nanocarreadores auxilia na estabilidade da dispersão dessas partículas em silicone.

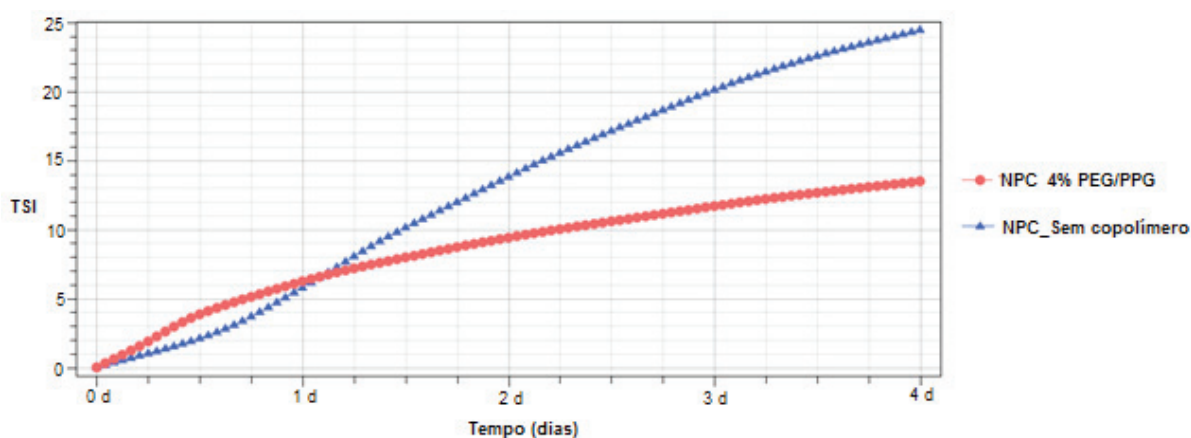


Figura 7 – Comparação da estabilidade cinética dos NPC com copolímero (NPC\_4% PEG/PPG) e sem copolímero (NPC\_sem copolímero).

Fonte: elaboração própria.

## 4 Conclusão

Este trabalho demonstra que a adição de copolímeros de bloco de PEG/PPG à formulação dos NPC melhora tanto a estabilidade cinética da dispersão das partículas quanto a polidispersidade das mesmas em silicone, apresentando-se como uma alternativa para aplicação como modificador da matriz polimérica coloidal.

Enfatiza-se que esses NPC modificados com copolímeros, devido às propriedades apresentadas, podem ser utilizados como estratégia para melhorar aspectos de solubilidade de drogas quando utilizados associados à matriz polimérica encapsulante uma vez que possuem propriedades anfífilas e atuam como surfactante.

## 5 Referências

BASF. **Boletim Técnico**: Pluronic F68 Block Copolymer Surfactant. New Jersey: BASF Corporation, 2004.

CERIZE, N. N. P et al. **Nanocarreadores coloidais para ativos hidrofílicos e processo de produção**. BR nº WO 2011156880 A1, 14 jun. 2011, 22 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.google.com/patents/WO2011156880A1?cl=pt>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CERIZE, N. N. P. **Estudo de sistemas nanocarreadores para o ácido 5-aminolevulínico com aplicação na terapia fotodinâmica**. 2012. 174 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade De São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

GRALLERT, S. R. M. et al. Polymeric micelles and molecular modeling applied to the development of radiopharmaceuticals. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 1-16, Mar. 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1984-82502012000100002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502012000100002&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 9 ago. 2014.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. **Nanocarreadores coloidais para veiculação tópica do antimoniato de meglumina**. BR nº 10 2016 003443 4, 18 fev. 2016, 07 jun. 2016.

OLIVEIRA, A. M. D. Obtenção de nanopartículas sensíveis a temperatura e pH a partir de copolímeros em bloco constituídos de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) e poli(N-isopropilacrilamida-co-ácido acrílico) sintetizado via RAFT visando aplicação em encapsulação e liberação controlada de ativos. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena. 2008.

PIMENTEL, L. F. et al. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, dez. 2007.