



NANOPARTÍCULAS: COMO PRODUZÍ-LAS EM ESCALA INDUSTRIAL

L. S. Ferreira¹, J. O. Trierweiler¹, S. S. Guterres²

¹Grupo de Integração, Modelagem, Simulação, Controle e Otimização de Processos (GIMSCOP)
Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,
E-MAIL: {luciane, jorge}@enq.ufrgs.br

²Faculdade de Farmácia, UFRGS
Avenida Ipiranga 2752, CEP.: 90610-000 - Porto Alegre - RS - BRASIL,
E-MAIL: nanoc@farmacia.ufrgs.br

Palavras Chaves: nanopartículas, scale-up, nanocápsulas.

Resumo: Muitas pesquisas, nestas últimas décadas, foram realizadas com o objetivo de evidenciar que o perfil de liberação de fármacos pode ser modificado em nível celular e tissular através do uso de sistemas coloidais os quais têm por objetivo a modulação de sua distribuição no organismo, o que pode ser entendido em termos mais amplos como *vetorização* de medicamentos. Os sistemas coloidais de vetorização envolvem principalmente lipossomas, nanoesferas e nanocápsulas. O interesse terapêutico dessas estruturas está centrado na capacidade de promover uma melhor biodisponibilidade de fármacos, alterarem o perfil de distribuição e, ainda, proteger a mucosa gastrointestinal dos efeitos adversos locais após a administração oral de certos fármacos. Além disto, estas estruturas também são potencialmente capazes de protegerem o fármaco frente a degradação enzimática, química ou imunológica, aumentar a especificidade de ação e, por consequência, resultar em doses terapêuticas menores. As nanocápsulas consistem de um sistema reservatório no qual um centro oleoso é circundado por uma fina parede polimérica. O objetivo principal deste trabalho é projetar e construir uma unidade multipropósito instrumentada e automatizada que permita avaliar o efeito das condições de operação e reação sobre as características das nanopartículas obtidas.

1 INTRODUÇÃO

"A 100 km de São Paulo está o Polo de Alta Tecnologia da Unicamp, sede do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), um dos centros brasileiros de excelência no estudo das nanociências e da nanotecnologia. Nele, cientistas mexem com átomos. E enxergam as medidas. Vêem átomos. Até os de carbono formando nanotubos." (Revista Época, 1º nov. 2004).

" 'Quais são os pontos mais promissores dentro da nanotecnologia?' Todos, não há diferenciação. A área biológica é muito forte. A área de materiais é a que hoje aparece mais, porque é mais próxima e

já há muitos produtos. A eletrônica vai demorar mais uns cinco anos, mas vai ser a de maior impacto. Essas são as áreas fundamentais. Mas junto com a nano, todo o perfil da ciência vai mudar. São novas preocupações e uma nova maneira de ver a ciência'. Para exemplificar o que está por vir, Toma enumerou alguns produtos nanométricos que já estão sendo comercializados, como a película que evita riscos em óculos, os vidros auto-limpantes, materiais para acompanhamento de tumor e as nanodrogas, que podem ser comandadas por magnetismo e com isso serem melhor administradas ". Trecho da entrevista concedida pelo pesquisador Henrique E. Toma, do



40 anos

Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia da Universidade de São Paulo (USP) à revista Ciência Hoje (Jul 2004) (<http://cienciahoje.uol.com.br/materia/view/749>).

"What could we do with layered structures with just the right layers? What would the properties of materials be if we could really arrange the atoms the way we want them? They would be very interesting to investigate theoretically. I can't see exactly what would happen, but I can hardly doubt that when we have some control of the arrangement of things on a small scale we will get an enormously greater range of possible properties that substances can have, and of different things that we can do." (Richard Feynman [CalTech, USA, 1959], ganhador do Prêmio Nobel de Física de 1965). Fonte: <http://www.almaz.com/nobel/>

Nanômetro (nm) é uma unidade de medida que corresponde à bilionésima (10^{-9}) parte do metro. É tipicamente o tamanho de uma molécula pequena. Para que se tenha uma idéia, os átomos têm dimensões de aproximadamente 0,1 a 0,4 nm. Já um vírus tem de 10 a 100 nm.

Especialmente na área de saúde e cosmética a nanotecnologia encontra aplicações bastante interessantes tais como gerenciamento de ciclos de vida dos produtos através de tecnologias de liberação controlada. Durante as últimas décadas houve considerável interesse em desenvolver **nanopartículas (NP) biodegradáveis** para atuarem como vetores de medicamentos e cosméticos. A liberação controlada de princípios ativos em um sítio específico de ação em dose terapêutica ótima tem sido o maior objetivo no desenvolvimento de tais partículas, quais sejam os lipossomas, as nanoesferas e nanocápsulas. Os lipossomas têm a habilidade de proteger os fármacos contra degradação, entregar o fármaco no sítio de ação e reduzir os efeitos colaterais. No entanto, os desenvolvimentos com lipossomas têm sido limitados devido a problemas inerentes tais como baixa eficiência de encapsulamento, rápida fuga de fármacos solúveis em água na presença de componentes do sangue e baixa estabilidade durante a estocagem. Por outro lado as NPs poliméricas oferecem algumas vantagens, tais como: ajudam a aumentar a estabilidade de fármacos/proteínas e possuem propriedades de liberação controlada muito interessantes (Soppimath *et al.*, 2001). As NPs consistem de uma matriz polimérica (nanoesferas) ou de um sistema reservatório no qual um centro oleoso é circundado por uma parede polimérica (nanocápsulas) (Barratt, 2000).

Vários métodos estão atualmente disponíveis para a preparação de nanopartículas, tais como emulsificação-difusão (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1997), *salting-out* (Allémann *et al.*, 1992) e nanoprecipitação (Thioune *et al.*, 1997; Mosqueira *et al.*, 2000). O método que será utilizado na tese de doutorado de L. S. Ferreira será o da nanoprecipitação. Este método será empregado na preparação em escala piloto (2L) de nanopartículas em uma unidade devidamente instrumentada e automatizada.

2 MATERIAIS E MÉTODOS: LABORATÓRIO E PLANTA PILOTO

O estudo em planta piloto será baseado no processo que atualmente é feito no laboratório (Müller, 2003). Posteriormente, variações deste processo serão estudadas.

2.1 Matérias-Primas

Fármaco: indometacina.

Polímero: poli- ϵ -caprolactona PM 60.000 (PCL).

Tensoativos:

lipofílico: monoestearato de sorbitano.

hidrofílico: polissorbato 80.

Fase oleosa: Miglyol 810 - mistura de triglicerídeos de ácidos graxos saturados de cadeia média.

2.2 Métodos

Suspensões coloidais de nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NS) contendo ou não indometacina são preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado (Fessi *et al.*, 1989). Da mesma forma, nanodispersões de indometacina (ND) na presença dos tensoativos lipofílico e hidrofílico são preparadas seguindo-se as mesmas etapas experimentais desta metodologia, na ausência de polímero. As composições quali e quantitativa das formulações são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das suspensões NC, NS e ND.

Componente	NC	NS	ND
Indometacina	100 mg	100 mg	100 mg
Poli- ϵ -caprolactona (PCL)	1000 mg	1000 mg	-----
Monoestearato de sorbitano	766 mg	766 mg	766 mg
Miglyol 810	3102 mg	-----	-----
Acetona	267 mL	267 mL	267 mL
Polissorbato 80	766 mg	766 mg	766 mg
Água destilada	533 mL	533 mL	533 mL



Oktober Fórum 2005 – PPGEQ

Para NC, procede-se a solubilização do fármaco, do polímero, do óleo e do tensoativo lipofílico em acetona, sob aquecimento moderado (40°C) e agitação. Posteriormente, esta fase orgânica é vertida com auxílio de um funil sobre a fase aquosa aquecida contendo água destilada e tensoativo hidrofílico. A suspensão resultante é mantida sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente e, posteriormente, levada ao evaporador rotatório a 45°C para eliminação do solvente orgânico e ajuste da concentração final de indometacina (1 mg/mL).

Para a formulação NS, o processo ocorre nas mesmas condições, excetuando-se a presença do óleo na fase orgânica.

Já, para a formulação ND, o fármaco e o tensoativo lipofílico são solubilizados em acetona

sob agitação e aquecimento moderado (40°C). Após, esta fase orgânica é vertida com auxílio de um funil sobre a fase aquosa aquecida contendo tensoativo hidrofílico, sob agitação. Após 10 minutos sob agitação constante, a suspensão é levada ao evaporador rotatório para evaporação da acetona e ajuste da concentração final.

2.3 Planta Piloto – Alternativas

A Figura 1 apresenta o projeto básico da Alternativa 1 de planta piloto onde poderão ser sintetizadas nanoemulsões, nanoesferas e nanocápsulas.

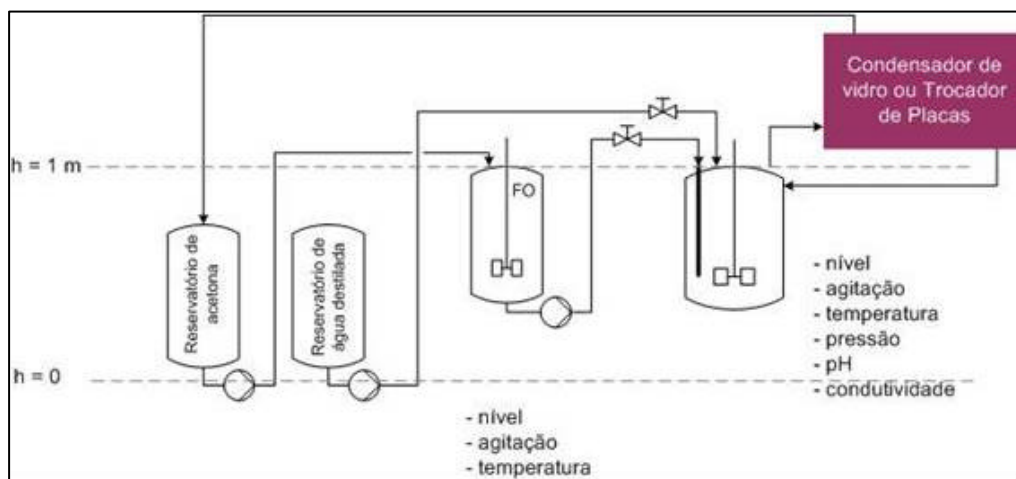


Figura 1: Projeto da Planta Piloto (Processo I).

O sistema é composto por:

- reservatórios para o solvente orgânico (acetona) e inorgânico (água);
- reator em aço inoxidável de preparação da fase orgânica. A fase orgânica será preparada no reator imediatamente anterior ao reator principal. Escolheu-se o aço como material de construção principalmente devido à necessidade de garantir pressão reduzida na etapa de separação do solvente;
- reator principal também em aço inoxidável.
- sistema de separação da acetona e de concentração da suspensão. Estudaremos 2 possibilidades para esta separação: condensador de vidro convencional e trocador de calor de placas. Este último tipo de trocador de calor (cf. Figura 2) consiste basicamente de um pacote de finas placas metálicas corrugadas comprimidas por parafusos de aperto

em um pedestal. Entre cada par de placas são usadas gaxetas para formar canais de escoamento pelos quais os fluidos quente e frio circulam alternadamente, trocando calor através das placas metálicas (Gut, 2003). As maiores vantagens dos trocadores a placas são a flexibilidade, versatilidade, economia de espaço, grande facilidade de limpeza e manutenção, alto rendimento térmico (por conta da grande área de troca térmica) e bom controle de temperatura;

- bombas peristálticas para adição controlada de água e acetona nos reatores e também para adição da fase orgânica a fase aquosa. Serão usadas bombas peristálticas porque se deseja avaliar a influência da vazão de adição da fase orgânica na formação das nanoestruturas;

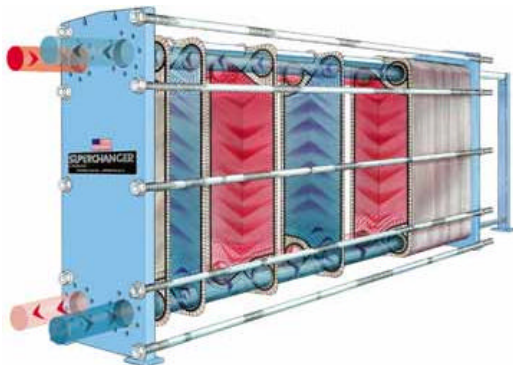


Figura 2: Fluxo dos fluidos num trocador de placas (<http://www.tranterphe.com/phe/superchanger/super.htm>).

- sistema de pesagem com células de carga para os 2 reatores. Este tipo de sistema será utilizado para quantificar a adição de reagentes nas diferentes formulações tanto para a fase orgânica quanto para a fase aquosa;
- bomba de vácuo;
- instrumentação nos reatores para medição e/ou controle das seguintes variáveis: temperatura, pressão, condutividade, pH e nível;
- sistema de aquisição de dados (leitura e escrita de variáveis analógicas e digitais).

Uma alternativa para este processo está mostrada na Figura 3 (Galindo-Rodrigues *et al.*, 2005).

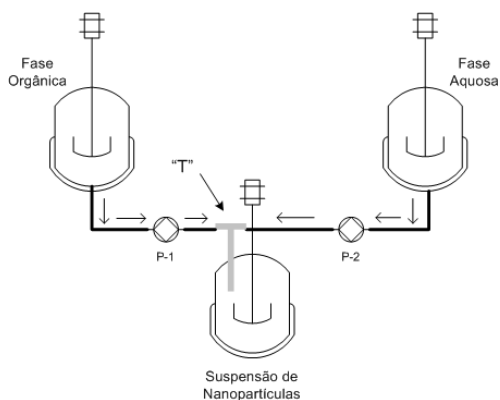


Figura 3: Processo alternativo para a produção de nanocápsulas (Processo II).

As diferenças do Processo II em relação ao I são basicamente:

- a) no Processo II é utilizado 1 reator a mais;

- b) no Processo II a contatamento entre as fases se dá através de um misturador tipo “T”.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Foi feita uma revisão na literatura sobre os métodos de preparação das nanopartículas bem como sobre o efeito das variáveis de processo e variações na formulação nas características finais das mesmas. Os principais resultados encontrados são descritos a seguir.

Thioune *et al.* (1997) estudaram para o polímero HP55 (hidroxipropil metilcelulose ftalato) usar uma mistura de acetona e água (solvente B) como fase orgânica de modo a determinar se este seria um solvente mais adequado para o HP55 que a acetona pura (solvente A). Quando o solvente A foi testado – para concentração de polímero igual a 3% – houve perda por agregação de mais de 70% do polímero resultando na não-formação de nanocápsulas. O aumento da quantidade de água na fase orgânica resultou na redução da formação de agregados (de 70% para menos que 7%). Adicionalmente, foi possível reduzir em 29% o montante de acetona na composição. Medidas da constante de interação entre as cadeias poliméricas e viscosidade intrínseca permitiram concluir que:

- (i) as interações entre as cadeias poliméricas são mais fracas no solvente B que no solvente A;
- (ii) as cadeias poliméricas estão organizadas de forma que o seu volume hidrodinâmico é maior no solvente B que no solvente A.

Desta forma, quando o polímero precipita no solvente B, ocorre menor agregação. Além disso, como as cadeias poliméricas estão muito mais associadas no solvente A, o polímero precipita em partículas maiores. Estes resultados indicam que é a natureza do solvente na fase polimérica o fator mais importante, e em particular a sua influência sobre o polímero em solução, refletidos pelos valores de viscosidade intrínseca e constante de interação.

Em Stainmesse *et al.* (1995) foi estudada a influência de alguns parâmetros na nanoprecipitação tais como, concentração de polímero no solvente orgânico, razão solvente/não solvente, percentagem de não solvente na formulação global e constante dielétrica na suspensão resultante. Para tanto foram analisadas as regiões de interesse no diagrama ternário (cf. Fig. 4) água/acetona/PCL.



Oktober Fórum 2005 – PPGEQ

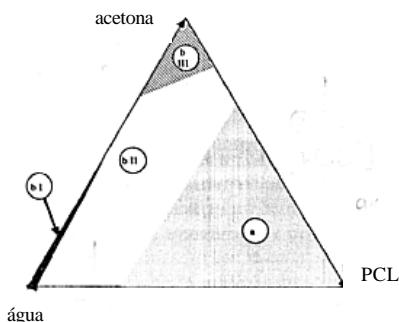


Figura 4: Diagrama Ternário mostrando a região de formação das nanopartículas (bI). Fonte: Stainmesse *et al.* (1995).

Na Figura 4 a região de interesse para formação das nanopartículas é a bI. Podemos ver que esta é bastante restrita. Cabe salientar que nos experimentos descritos em Stainmesse *et al.* (1995) além dos constituintes líquidos das fases orgânica (acetona) e aquosa nenhum outro componente (surfactante, tampão, óleo) entrou na preparação. A partir Figura 4 foi verificado que:

- (i) Na Região **a** a concentração de PCL é maior que a solubilidade do polímero na acetona pura;
- (ii) A Região **bI** é onde se obtém a suspensão de nanopartículas. Esta região é dividida em 3 subregiões, a saber: bIA (preparação perfeitamente límpida com partículas de 150 a 200 nm com desvio padrão de 50 nm), bIB (Formação de nanopartículas com observação de apenas 1 pico de 150 nm com desvio padrão de 67 nm) e bIC (a preparação tem aparência leitosa podendo ser detectadas 2 populações diferentes de partículas, sendo as maiores resultante de agregação de nanopartículas).
- (iii) Na Região **bII** ocorre o crescimento dos agregados detectados na região bIC levando a floculação da suspensão.
- (iv) Na região **bIII**, a proporção de acetona na mistura final é alta o suficiente para manter o polímero em solução.

Foi verificado, para concentração fixa de polímero em 26 g/L, que para valores de razão acetona/água (r) acima de 0,333 a floculação é tão intensa que o tamanho das partículas que permanecem na suspensão não pode ser determinado. Para um valor fixo de r (0,1667) e concentração de PCL acima de 23 g/L também ocorre floculação.

4 CARACTERÍSTICAS E ESTUDOS A SEREM FEITOS NO PROCESSO ATUAL

De acordo com os dados da Tabela 1 podem ser constatadas as seguintes características:

- a) a concentração máxima de nanocápsulas na suspensão final seria de, aproximadamente, 1,375 g/L. Por exemplo, numa batelada de 100L seria produzido apenas 137,5 g de nanocápsulas. Em termos tecnológicos este é um problema, pois o rendimento do processo é baixo;
- b) a razão acetona/água (r) é igual a 0,5;
- c) a concentração de polímero na fase orgânica é 3,74 g/L;

Quando os dados dos itens a, b e c são comparados com os resultados dos trabalhos descritos na seção anterior verifica-se que existe um grande potencial de melhoria no processo atual empregado em Laboratório e descrito na Seção 2. Desta forma os principais itens a serem estudados nesta tese de doutorado são:

- avaliação da inclusão de água na formulação do solvente orgânico;
- efeito do aumento da concentração de polímero na fase orgânica;
- estudo da modificação na razão acetona/água;
- avaliação da condensação da acetona em trocador de placas e da evaporação da acetona em centrífuga a vácuo (SpeedVac®);
- implementação de processo contínuo de produção e separação.

REFERÊNCIAS

- | |
|---|
| Allémann, E.; Gurny, R.; Doelker, E. Preparation of aqueous polymeric nanodispersions by a reversible salting-out process: influence of process parameters on particle size. <i>International Journal of Pharmaceutics</i> , v. 87, pp. 247 – 253 (1992). |
| Barratt, G. M. Therapeutic applications of colloidal drug carriers. <i>Pharmaceutical Science & Technology Today</i> , v. 3 (5), pp. 163 - 171 (2000). |
| Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P.; Ammoury, N., Benna, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. <i>International Journal of Pharmaceutics</i> , v. 55, pp. R1 – R4 (1989). |
| Galindo-Rodríguez, Sergio, A.; Puel, F.; Briançon, S., Allémann, E., Doelker E.; Fessi H. Comparative scale-up of three methods for producing ibuprofen-loaded nanoparticles, <i>European Journal of Pharmaceutical Sciences</i> , v. 25, pp. 357–367 (2005). |



Gut, Jorge Andrey Wilhelms. Configurações Ótimas para Trocadores de Calor a placas. *Tese (Doutorado)*. EP/USP (2003).

Müller, Cláudia Regina. Produtos secos por aspersão a partir de suspensões de nanocápsulas poliméricas. *Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)* - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Orientador: Sílvia Stanisçuaski Guterres (2003).

Quintanar-Guerrero, D.; Allémann, E.; Doelker, E.; Fessi, H. A mechanistic study of the formation of polymer nanoparticles by the emulsification-diffusion technique. *Colloid Polymer Science*, v. 275, pp. 640 – 647 (1997).

Soppimath, K. S.; Aminabhavi, T. M; Kulkarni, A. R.; Rudzinski, W. E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, v. 70, pp. 1 - 20 (2001).

Mosqueira, V. C. F.; Legrand, P.; Pinto-Alphandary, H.; Puisieux, F.; Barrat, G. Poly(D,L-lactide) nanocapsules prepared by a solvent displacement process: influence of the composition on physicochemical and structural properties. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 89 (5), pp. 614 – 626 (2000).

Staimesse, S.; Orecchioni, A.-M; Nakache, E.; Puisieux, F.; Fessi, H. Formation and stabilization of a biodegradable polymeric colloidal suspension of nanoparticle. *Colloid and Polymer Science*, v. 273, pp. 505 – 511 (1995).

Thioune, O.; Fessi, H.; Devissaguet, J.P.; Puisieux, F. Preparation of pseudolatex by nanoprecipitation: influence of the solvent nature on intrinsic viscosity and interaction constant. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 146, pp. 233 – 238 (1997).