

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

LETÍCIA ANTUNES NATIVIDADE

**ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE
NÚCLEO LIPÍDICO UTILIZANDO PCL E EUDRAGIT® S100**

PORTO ALEGRE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

LETÍCIA ANTUNES NATIVIDADE

**ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE
NÚCLEO LIPÍDICO UTILIZANDO PCL E EUDRAGIT® S100**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel de Química.

Profa. Dra. Adriana Raffin Pohlmann
Orientadora

PORTO ALEGRE
2019

CIP - Catalogação na Publicação

Natividade, Leticia Antunes
Estudo de biodegradação de nanocápsulas poliméricas
de núcleo lipídico utilizando PCL e Eudragit® S100 /
Leticia Antunes Natividade. -- 2019.
38 f.
Orientadora: Adriana Raffin Pohlmann.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Bacharelado em Química, Porto Alegre,
BR-RS, 2019.

1. Nanocápsulas poliméricas. 2. Estudo de
biodegradação. I. Pohlmann, Adriana Raffin, orient.
II. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais que acreditaram em mim antes mesmo de eu nascer. Obrigada pelo amor e todo o resto!

Agradecimentos

Primeiramente, aos meus pais que sonham com isso para mim e tornaram possível. Após 25 anos, posso dizer que realizei o maior sonho dos dois.

À minha família que aprendeu a conviver com a minha ausência, que me apoiou nos momentos em que eu precisei e promoveu a paz que eu precisava quando necessário. À mãezinha, por todo amor, dedicação e pelos lanches que deixava pronto para as madrugadas em que sabia que eu não dormiria. À Dudu, por todas as vezes que ela pediu a santinha que eu pudesse ir bem nas provas, pela admiração e por fazer com que eu me sentisse muito mais inteligente do que eu jamais fui. Ao Murilo, por todo frio que pegou para me buscar na parada na volta do Vale a noite e por sempre me lembrar de que eu não cheguei até aqui por sorte.

Aos meus amigos, com quem eu tenho muitos rolês de dívida. Obrigada por acreditarem em mim quando eu não achava que conseguiria. Desculpem pelos sumiços. Amo todos. Riremos disso em Paris.

Ao Rodri, por ter segurado a minha mão na casa do pânico e não ter soltado até hoje, por ter sido meu companheiro em tantas viagens de T10 e por todas caronas. Obrigada por sempre me lembrar do essencial e não permitir que eu me cobre excessivamente.

Ao Vini que sempre me lembra que a vida também é levantar a cabeça e seguir em frente, que me ama e brigaria com o mundo por mim. Ao Chris que chegou aos 45 minutos finais dessa longuíssima estrada, mas me ajudou, com pensamento positivo, a fazer dar certo as sínteses e foi meu ponto de paz nos dias mais estressantes. Obrigada por todo o carinho, cuidado e preocupação comigo.

A todos os amigos que fiz durante a graduação. Aos colegas de Café da Química, com quem eu conversei por muitas horas nos últimos meses e me fizeram rir nos dias mais difíceis. Ao grupo de formandos que foi suporte em boa parte do semestre.

À Prof^a Adriana, por ter aberto as portas do K204 a mim e permitir que eu conhecesse todo uma área nova que até então eu não havia ouvido falar. Pela paciência e conhecimento transmitido. Pela profissional exemplar e que serve de inspiração para o meu futuro.

Aos meus colegas de laboratório, com quem eu dividi bancada por 2 anos. Obrigada pelas colaborações e orientação. Ao Lucas, com quem eu dividi muitos bolos de cenoura, bolachas recheadas, cafés ruins e perrengues no rotaevaporador. Ao Rodrigo por me ensinar com paciência tudo que foi possível.

A existência do Sci-Hub que permitiu que eu buscasse muita bibliografia deste trabalho e tantos outros da graduação.

E a mim, por não ter desistido.

RESUMO

A nanotecnologia é uma área em expansão dentro da ciência. O tamanho nano permite que o material desenvolvido tenha características físico-químicas diferenciadas e de grande interesse tecnológico. Devido a sua interdisciplinaridade, vem sendo estudada por áreas como química, física, medicina, engenharias, entre outros. Dentre os muitos materiais englobados pela nanotecnologia, os nanocarreadores (sistemas cuja função é carrear um fármaco até o seu sítio ativo) têm sido explorados vastamente nas últimas décadas. Suas vantagens frente a medicações tradicionais tornam os nanocarreadores sistemas promissores pois diminuem efeitos colaterais, bem como, permitem uma liberação controlada do fármaco no organismo. Neste trabalho, foram desenvolvidas nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico (LNCs) com parede polimérica composta pelos polímeros PCL $M_n=80 \text{ g mol}^{-1}$ e o Eudragit® S100. Com diâmetro médio $D_{[4,3]}$ variando de 140 a 167 nm por difração de laser (DL) e de 148 a 182 nm por espalhamento de luz dinâmico (DLS); índice de polidispersão das formulações variaram de 1,13 a 1,49 (DL) e 0,137 a 0,177 (DLS); área superficial específica variou de 43,9 a 51,5 m^2/g e densidade de partículas variou de $3,40 \times 10^{12}$ a $1,49 \times 10^{13}$ partículas por litro de formulação. Visando a preocupação crescente com o meio ambiente e a geração de resíduos biodegradáveis, realizou-se um estudo de biodegradação das formulações (teste de solo simulado), onde ficou demonstrado que os componentes das nanopartículas degradam, mas podem apresentar perfis diferentes devido a diferença de componentes das LNCs.

Palavras-chave: Nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico. Eudragit® S100. Poli(ϵ -caprolactona). Estudo de biodegradação. Teste de solo simulado

ABSTRACT

Nanotechnology is a growing area within science. The nano size allows the developed material to have different physicochemical characteristics of great technological interest. Due to its interdisciplinarity, it has been studied by areas such as chemistry, physics, medicine, engineering, among others. Among the many materials encompassed by nanotechnology, nanocarriers (systems whose function is to carry a drug to its active site) have been widely explored in recent decades. Its advantages over traditional medications make nanocarriers promising systems because they reduce side effects as well as allow a controlled release of the drug in the body. In this work, lipid core nanocapsules (LNCs) with polymeric wall composed by the polymers PCL $M_n = 80 \text{ g mol}^{-1}$ and Eudragit® S100 were developed. With a mean diameter $D_{[4,3]}$ ranging from 140 to 167 nm by laser diffraction (DL) and 148 to 182 nm by dynamic light scattering (DLS); Polydispersion index of the formulations ranged from 1.13 to 1.49 (DL) and 0.137 to 0.177 (DLS); Specific surface area ranged from 43.9 to 51.5 m^2 / g and particle density ranged from 3.40×10^{12} to 1.49×10^{13} particles per liter of formulation. Aiming at the growing concern with the environment and the generation of biodegradable residues, a biodegradation study of the formulations (simulated soil test) was carried out, showing that the nanoparticle components degrade, but may present different profiles due to the difference in LNC components.

Keywords: Lipid core nanocapsules. Eudragit® S100. Poly(ϵ -caprolactone).
Biodegradation study. Simulated Soil Test

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tipos de nanocarreadores.....	13
Figura 2: Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: (a) Nanocápsulas com o fármaco dissolvido no núcleo lipídico; (b) Nanocápsula com o fármaco adsorvido na parede polimérica; (c) Nanoesfera com o fármaco adsorvido na matriz polimérica; (d) Nano esfera com o fármaco adsorvido ou disperso na matriz polimérica (SCHAFFAZICK et. al., 2003)	14
Figura 3: Representação esquemática da estrutura química de diferentes Eudragit®: (a) Eudragit® L e S; (b) Eudragit® E; (c) Eudragit® RS e RL; (d) Eudragit® NE 30D	17
Figura 4: Estrutura Eudragit® S100.....	18
Figura 5: Representação esquemática de uma molécula de tensoativo com suas regiões polares e apolares.	18
Figura 6: Câmara respirométrica para ensaio de biodegradação de LNCs	24
Figura 7: Distribuição de diâmetros dos três lotes de LNC 80 por difração de laser (DL).....	27
Figura 8: Distribuição de diâmetros dos três lotes de LNC S100 por difração de laser (DL).....	28
Figura 9: Distribuição de diâmetros das LNCs S100 por espalhamento de luz dinâmico (DLS).	28
Figura 10: Distribuição diâmetros das LNCs 80 por espalhamento de luz dinâmico (DLS).	29
Figura 11: Potencial Zeta das formulações LNC S100	30
Figura 12: Potencial Zeta das formulações LNC 80	31
Figura 13: Produção média de CO ₂ acumulado em mg/60g de solo nos respirômetros para papel filtro (controle positivo), negativo(polipropileno) e os lotes de LNC S100 e LNC 80.	31

LISTA DE SIGLAS

LNC - Nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico

TCM – Triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico

PCL - Poli(ϵ -caprolactona)

DL - difração *laser*

DLS - Espalhamento de luz dinâmico

LNC 80 – Nanocápsula polimérica de núcleo lipídico com o polímero PCL $M_n=80 \text{ g mol}^{-1}$

LNC S100 – Nanocápsula polimérica de núcleo lipídico com o polímero Eudragit® S100

nm - nanômetros

μm – micrômetros

mV – milivolt

$D_{[4,3]}$ - diâmetro médio (DL)

SPAN - índice de polidispersão (DL)

ASE - área superficial específica por Difração de Laser (DL)

Dz - diâmetro médio (DLS)

PD I- índice de polidispersão espalhamento de luz dinâmico (DLS)

PND – Densidade do número de partículas (NTA).

NTA - análise de rastreamento de nanopartículas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. NANOTECNOLOGIA	12
2.2. NANOCARREADORES	13
2.3. NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE NÚCLEO LIPÍDICO.....	14
2.4. COMPONENTES	15
2.4.1. POLÍMEROS	15
2.4.1.1. PCL.....	15
2.4.1.2. EUDRAGIT® S100.....	16
2.4.2. TENSOATIVOS	18
2.4.2.1. POLISSORBATO 80	19
2.4.2.2. MONOESTEARATO DE SORBITANO.....	19
2.4.3. TRIGLICERÍDEO DE CADEIA MÉDIA (TCM)	20
2.5. ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO.....	21
3. OBJETIVO	22
3.1. OBJETIVO GERAL	22
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1. MATERIAIS.....	23
4.2. MÉTODOS.....	23
4.2.1. PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES	23
4.2.2. CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES	24
4.2.3.1 ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO	24
4.2.3.2. DETERMINAÇÃO DO CO ₂ GERADO	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS LNC 80 E LNC S100.....	26
5.2. ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO.....	31
6. CONCLUSÕES	34
BIBLIOGRAFIA	35

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é proposta como um meio para melhorar a entrega dos fármacos em sítios específicos. As nanopartículas poliméricas são conhecidas por nanoesferas (matriz) e nanocápsulas (núcleo), as quais diferem-se por suas composições química e têm sido aplicadas constantemente devido às suas promissoras aplicações terapêuticas.

As nanocápsulas de núcleo lipídico (LNC) são um tipo específico de nanocápsulas poliméricas compostas de triglicerídeos de cadeia média, monoestearato de sorbitano, polímero e polissorbato 80. O organogel formado no núcleo lipídico pela mistura do monoestearato de sorbitano e triglicerídeo de cadeia média aumenta a capacidade de carga de fármaco do nanocarregador em comparação com a nanocápsula polimérica obtida sem o uso de monoestearato de sorbitano.

Tendo em vista o interesse científico significativo e o potencial promissor desses sistemas, aspectos envolvendo a segurança dos sistemas nanoparticulados quando descartados no meio ambiente tornam-se um importante objeto de pesquisa.

Neste sentido, os testes de biodegradabilidade que são ferramentas para avaliar o destino de produtos químicos no ambiente tornam-se um forte aliado, podendo fornecer uma caracterização inicial desses compostos em relação à possibilidade de degradação via microrganismos. ASTM D-5338-92 e ISO/CEN 14855 definem como sendo biodegradável todos os materiais que sofrem mineralização de 60% do carbono da estrutura, sendo transformado em CO₂ em até 45 dias e não originando subprodutos que possam exercer potencialidades tóxicas ao meio ambiente e sistemas biológicos em geral.

Neste trabalho, foi realizado o estudo de biodegradação de nanocápsulas poliméricas contendo PCL ou Eudragit® S100 a fim de estudar o seu perfil de degradação e bem como a influência da parede polimérica para este.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. NANOTECNOLOGIA

O físico Richard Feynman, ganhador do Prêmio Nobel de Física de 1965, no dia 29 de dezembro de 1959 ministrou uma palestra no Instituto de Tecnologia da Califórnia intitulada “There’s Plenty of Room at the Bottom”, onde sugeriu a possibilidade de manipulação dos átomos de forma a construir novos materiais. Afirmou que “Os princípios da física não mencionam algo contra a possibilidade de manipular as coisas átomo por átomo” e referiu que a maior barreira para a manipulação em escala nanométrica provavelmente seria a dificuldade na visualização (FEYNMAN, 1992). Esta palestra não impactou de forma direta o desenvolvimento da nanotecnologia, mas foi instrumento importante na construção da identidade de todo um novo ramo de pesquisa (SCHULTZ, 2018).

Basicamente, a nanotecnologia é a área que lida com projetos, manipulação da matéria a escala atômica e molecular, criando materiais e desenvolvendo novos produtos a escala do bilionésimo de metro. Com dimensões compreendidas entre 1 a 100 nanômetros (nm), nanociência e nanotecnologia são o estudo, caracterização e a aplicação de sistemas extremamente pequenos que são empregados nos mais diversos campos da ciência como química, medicina, física, biologia, farmácia, engenharias e computação (CAO, 2004; SAHOO et al., 2007; CHAU et al., 2007). Pode-se entender a nanotecnologia como sendo uma área transversal a vários domínios científicos, que utiliza conhecimentos multidisciplinares.

Entende-se como materiais nanoestruturados aqueles que apresentam, pelo menos em uma dimensão, o tamanho em escala nanométrica. Materiais e produtos nanoestruturados, geralmente, apresentam características funcionais únicas, que não são encontradas em escala macro. As propriedades físicas e químicas potencializadas proporcionam um grande interesse em suas futuras aplicações tecnológicas. Dentre eles, destacam-se nanopartículas, nanocompósitos, nanotubos, nanofibras, nanocristais.

Nanobiotecnologia é o nome dado a nanociência quando aplicada à vida de forma a manipular sistemas vivos ou construir materiais com funções biológicas. Pode-se defini-la como sendo o desenvolvimento, o estudo e a produção de

nanomateriais utilizados para fins biológicos em escala nanométrica. Dentro desta, destacam-se áreas como a nanomedicina (controle de sistemas biológicos), nanoeletrônica (aumento da capacidade de armazenamento de dados), nanotecnologia farmacêutica (melhoramento na entrega de fármacos nos sítios de ação), nanocosmética (ingredientes ativos com fins dermocosméticos).

2.2. NANOCARREADORES

Denomina-se nanocarreador a “nanoestrutura associada ou envolta a uma substância ativa, que seja capaz de transportar uma substância ativa no organismo propiciando sua liberação controlada” (CERIZE, 2012). Em geral, possuindo diâmetro entre 10 e 800 nm, tem como exemplos as nanopartículas metálicas, micelas, vesículas, lipossomos, dendrímeros, nanopartículas poliméricas, nanotubos de carbono entre outros.

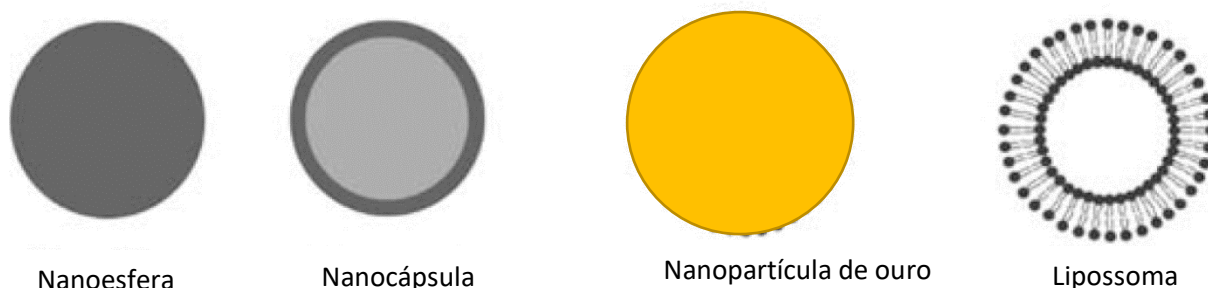


Figura 1: Tipos de nanocarreadores

Segundo Misra et al. (2010), os nanocarreadores possuem propriedades únicas que os distinguem de outros tratamentos para cânceres como: possuir propriedades terapêuticas e/ou diagnósticas, ter um *design* para carrear uma quantidade de fármacos, ser sintetizado a fim de acomodar diferentes fármacos simultaneamente, permitindo uma terapia combinatória do câncer; contornar o mecanismo de resistência do fármaco, aumentar de forma concomitante a concentração intercelular do fármaco e os efeitos quimioterápicos nas células cancerosas, bem como a diminuição da toxicidade sistêmica. O estudo de Prakash et al. (2011) apresenta a taxa constante de *drug delivery*, que nos permite manutenção de dose terapêutica constante no sítio de ação e o aumento na estabilidade do fármaco devido à proteção da degradação como

propriedades muito importantes, nos dando ainda mais motivos que corroboram a importância desses nanosistemas. Os nanocarreadores otimizam a liberação de fármacos, de forma isolada ou combinada a outros. Sem que sejam necessárias altas doses de fármacos e com a entrega destes diretamente nos sítios de ação, efeitos colaterais são diminuídos.

2.3. NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE NÚCLEO LIPÍDICO

Nanopartícula é a denominação dada a sistemas carreadores de fármacos com diâmetro inferior a 1 μm . O termo nanopartícula polimérica se refere a nanopartículas compostas de polímeros lineares, que engloba as nanocápsulas e nanoesferas diferindo entre si pela organização estrutural e composição (Figura 2). Nanocápsulas poliméricas são constituídas de parede polimérica ao redor de um núcleo oleoso, com a possibilidade de o fármaco estar adsorvido à parede ou disperso neste núcleo enquanto as nanoesferas são formadas por uma matriz polimérica onde o fármaco pode estar retido ou adsorvido e não possuem núcleo oleoso.

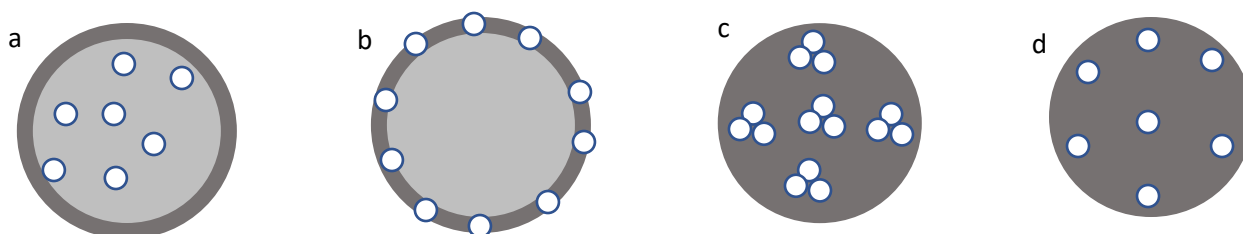


Figura 2: Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: (a) Nanocápsulas com o fármaco dissolvido no núcleo lipídico; (b) Nanocápsula com o fármaco adsorvido na parede polimérica; (c) Nanoesfera com o fármaco adsorvido na matriz polimérica; (d) Nanoesfera com o fármaco adsorvido ou disperso na matriz polimérica (SCHAFFAZICK et al., 2003)

As nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico (LNCs) têm como componentes, além da fina parede polimérica, um núcleo lipídico composto de um organogel decorrente da dispersão de monoestearato de sorbitano em um tricilglicerol e um surfactante na interface formando uma corona hidrofílica (JÄGER et al., 2009)

Na literatura, diversos métodos de preparação das nanocápsulas poliméricas são encontrados, porém estes podem ser divididos em duas classes principais (LEGRAND et al, 1999): a primeira engloba reações de polimerização e a segunda é conhecida como precipitação interfacial de polímero pré-formado por deslocamento

de solvente (FESSI et al., 1989).

O método descrito por Fessi (1989) consiste na formação e precipitação cineticamente controlada de vesículas coloidais construídas por uma fase oleosa delimitada por uma parede polimérica em uma fase aquosa externa. Experimentalmente é realizada a mistura da fase orgânica (constituída de um ou mais solventes orgânicos, o polímero e o óleo) miscível em uma fase aquosa (constituída de surfactante hidrofílico). Uma vez vertidas as soluções, o polímero precipita devido a diminuição da sua solubilidade a esta mistura de solventes. A difusão mútua dos solventes leva à formação de uma suspensão coloidal. Nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma formulação de nanocápsulas poliméricas incluindo um surfactante de baixo equilíbrio lipófilo-hidrófilo na formulação, que se dispersa no óleo do núcleo, modificando as propriedades das nanocápsulas poliméricas (JÄGER et al., 2009). Essas novas nanocápsulas foram denominadas: nanocápsulas de núcleo lipídico (LNC). A liberação do fármaco a partir das nanopartículas poliméricas corre essencialmente por difusão fickiana, através da degradação do polímero, ou, ainda, pela combinação dos dois mecanismos (BRENNOO-PEPPAS, 1995)

2.4. COMPONENTES

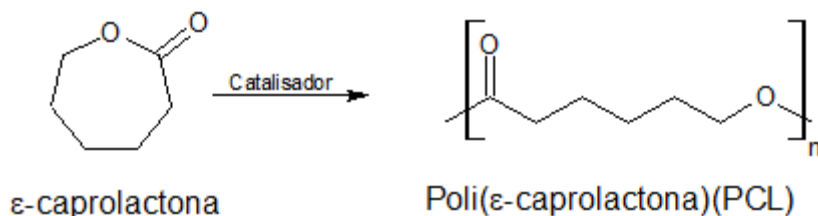
2.4.1. POLÍMEROS

As propriedades das formulações de nanopartículas poliméricas podem ser diretamente influenciadas pelas propriedades físico-químicas do polímero escolhido. A natureza do polímero, bem como, as suas propriedades físico-químicas influenciam de forma significativa no perfil de liberação de fármacos e no diâmetro da partícula (Rieux et al., 2006). Os fatores que mais influenciam na escolha do polímero para formulação de nanocápsulas para liberação controlada de fármacos são biodisponibilidade, biocompatibilidade, taxa de degradação e facilidade de produção do polímero.

2.4.1.1. PCL

A poli (ϵ -caprolactona) (PCL) é um dos polímeros mais utilizados na produção de nanopartículas, bem como outros poliésteres de ácido como poli (ácido -lático) (PLA) e o poli (ácido -lático-co-glicólico) (PLGA) (DOMB et. al., 2002; RIEUX et. al. 2006).

A PCL é um polímero biodegradável, biocompatível, absorvível pelo organismo, não tóxico, hidrofóbico, semi-cristalino cuja cristalinidade tende a diminuir com o aumento da sua massa molecular (JENKINS, M. J.; HARRISON, K. L., 2006). A sua síntese ocorre por abertura de anel empregando-se o monômero ϵ -caprolactona, com o uso de catalisadores aniônicos, catiônicos ou de coordenação (WOODRUFF et. al, 2010). A síntese da PCL é apresentada no Esquema 1.



Esquema 1: Representação da síntese da Poli(ϵ -caprolactona) (PCL)

Este polímero com massa molecular média compreendida entre 3.000 e 80.000 Da apresenta boa solubilidade em clorofórmio, benzeno, tolueno e diclorometano entre outros solventes, e ponto de fusão numa faixa entre 59 °C e 64 °C, o que permite a moldagem em temperaturas relativamente baixas.

A biodegradação da PCL ocorre devido à hidrólise das ligações éster em duas fases: na primeira há a diminuição da massa molecular do polímero; na segunda, quando o polímero apresenta baixa massa molecular e baixa cristalinidade sofre fagocitose ou solubilização pelos fluídos corporais. A completa biodegradação se dá quando todo material é convertido em CO₂ e H₂O através da ação de organismos vivos.

A PCL mostra-se adequada para a utilização em sistemas de liberação controlada de fármacos devido a sua alta permeabilidade para diversas moléculas e baixa toxicidade. Devido a sua degradação lenta comparativamente a outros poliésteres alifáticos, apresenta-se como ideal para liberação controlada a longo prazo (SINHA et al., 2004).

2.4.1.2. Eudragit® S100

São denominados Eudragit® os polímeros sintéticos derivados do ácido metacrílico, metacrilato de metila e acrilato de etila (CHOURASIA; JAIN, 2003) (Figura 3).

Em geral, esses polímeros se dissolvem em pH acima de 5,5, quando substituintes COOH estão disponíveis, sendo a solubilidade em água variada conforme a proporção de grupos pendentes carboxila livres e ésteres. Devido às diferenças de composição dos copolímeros os diversos tipos de Eudragit® apresentam solubilidades distintas. Destacam-se os Eudragit® E, L, S, NE, RL e RS.

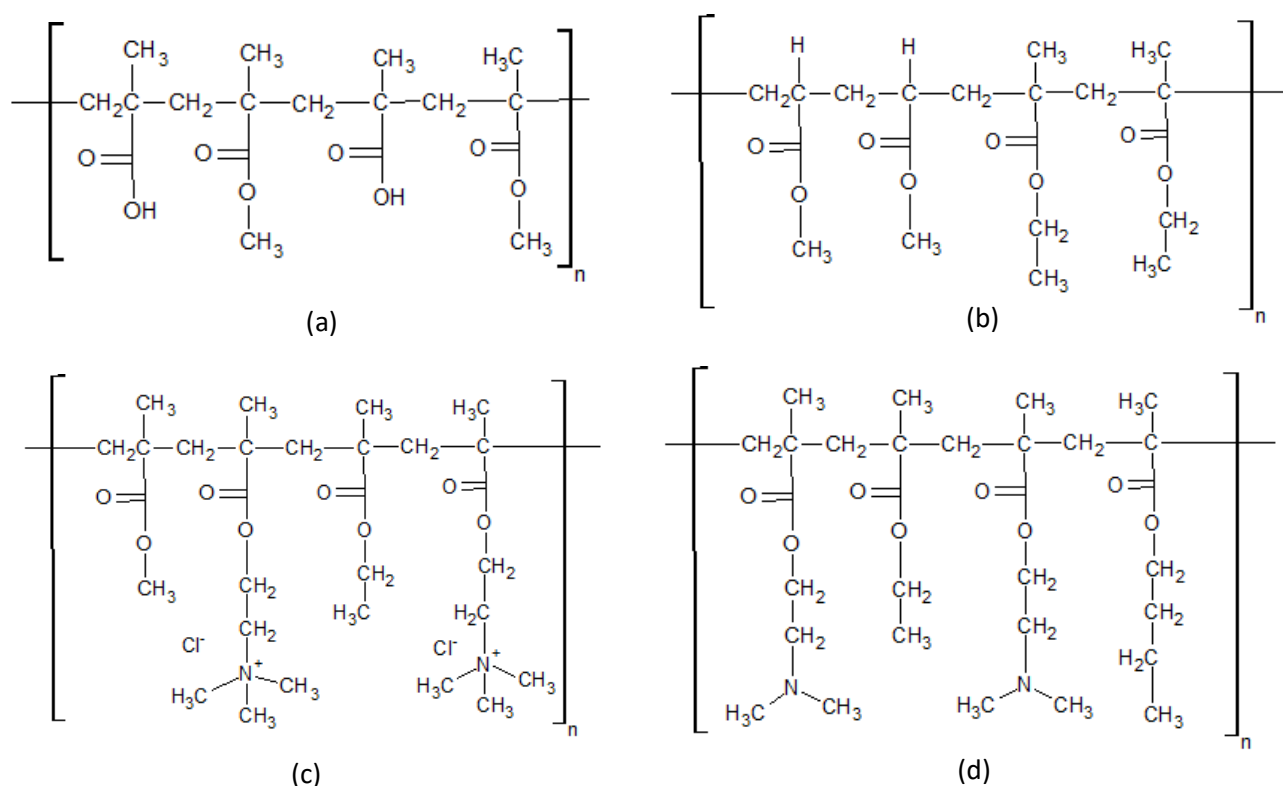


Figura 3: Representação esquemática da estrutura química de diferentes Eudragit®: (a) Eudragit® L e S; (b) Eudragit® E; (c) Eudragit® RS e RL; (d) Eudragit® NE 30D

Devido às diferenças nas estruturas químicas, cada um dos polímeros citados pode ter diversas aplicações farmacêuticas. O Eudragit® L dissolve em meios aquosos numa faixa de pH que varia entre 5,5 e 6,0, sendo utilizado, considerando esta característica, em formulações de revestimentos entéricos. Os Eudragit® RS e RL são utilizados na formulação de produtos de liberação sustentada devido a sua alta permeabilidade e baixa solubilidade em água. O Eudragit® E, por sua vez, é utilizado como revestimentos, atuando como protetores de umidade e/ou para mascarar sabores, dissolvendo-se em pH 5,0.

O Eudragit S100® é um polímero aniônico sintetizado a partir do ácido metacrílico e metacrilato de metila na proporção 1:2 (CHOURASIA; JAIN, 2003) (Figura 4). É um exemplo de polímero utilizado para liberação controlada de fármaco.

Devido a sua solubilidade dependente do pH, o Eudragit S100® tem baixa solubilização nas regiões do trato gastrointestinal com pH ácido (estômago) ou neutro (jejuno-íleo), porém em regiões mais alcalinas (intestino) tem alta solubilização. Devido a sua sensibilidade pH-dependente, o polímero é empregado como revestimento em nanocápsulas poliméricas, protegendo os fármacos de degradação em pH ácido e permitindo a sua liberação em pH acima de 7 no intestino e cólon (KHATIK et al., 2013). É um polímero amorfo, não biodegradável, atóxico e não absorvível (THAKRAL; THAKRAL; MAJUMBAR, 2012).

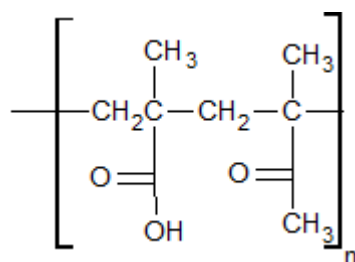


Figura 4: Estrutura Eudragit® S100

2.4.2. TENSOATIVOS

Tensoativos – também conhecidos como surfactantes – são moléculas anfifílicas que possuem afinidade com água e óleo. Possuem uma parte da molécula com característica apolar e uma outra parte com característica polar. A região polar interage com a água, enquanto a parte apolar é solúvel em hidrocarbonetos, óleos e gorduras. Sua função é promover estabilidade a uma emulsão, reduzindo a tensão interfacial entre os líquidos imiscíveis (LACHMAN, 2001).

A parte apolar, geralmente tem origem em cadeia carbônica (linear, ramificada ou com partes cíclicas). A parte polar deve ser formada por alguns átomos que apresentem concentração de cargas (negativas ou positivas), apresentando atração eletrostática pelas moléculas de água próximas.

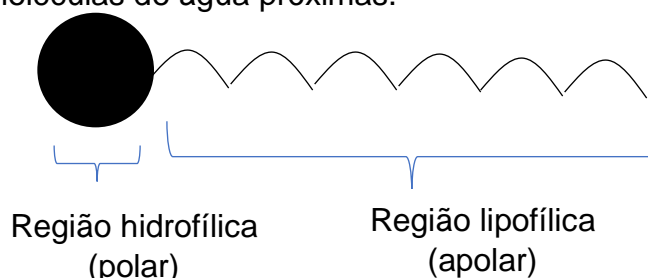


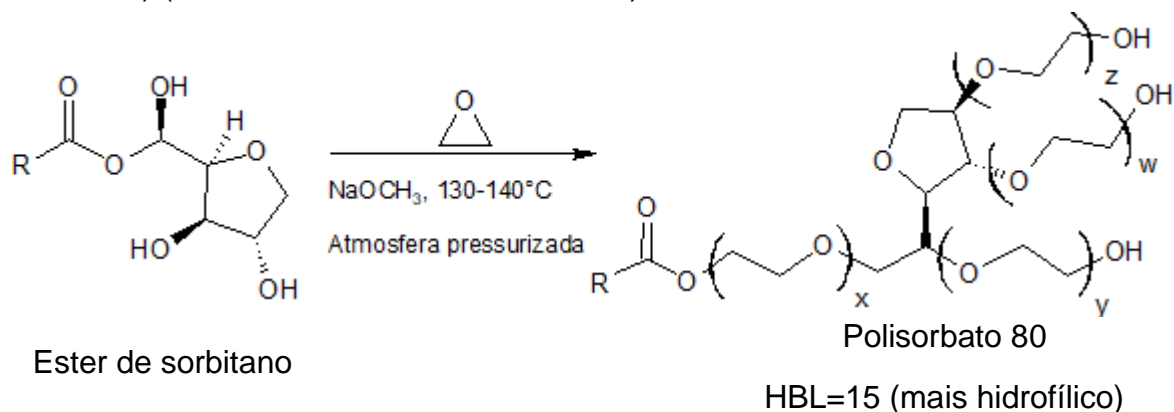
Figura 5: Representação esquemática de uma molécula de tensoativo com suas regiões polares e apolares.

Griffin (1974) desenvolveu o sistema Balanço Hidrófilo-Lipófilo (“*Hydrophilic-Lipophilic Balance*” – HBL) para classificação numérica de compostos segundo as

suas características hidrofílicas e lipofílicas. O HBL é definido como a razão entre o peso percentual dos grupos hidrofílicos sobre o peso percentual dos grupos hidrofóbicos da molécula. Com isso, é possível correlacionar a estrutura química do tensoativo com sua atividade superficial (LACHMAN, 2001). A escala compreende valores entre 0 e 20. Moléculas com maior afinidade pela fase aquosa possuem alto HBL, enquanto moléculas com maior afinidade pela fase orgânica possuem HBL mais baixo.

2.4.2.1. POLISSORBATO 80

O polissorbatato 80 ou Tween 80 (polioxietileno sorbitano), é um éster de sorbitano etoxilado. É o resultado da reação de éster de sorbitano com óxido de etileno (Esquema 2). É caracterizado como sendo um tensoativo não iônico, solúvel em água e com valor de HLB de 15,0 (apresenta predominantemente características hidrofílicas) (GRIFFIN, 1954; TADROS, 2005).



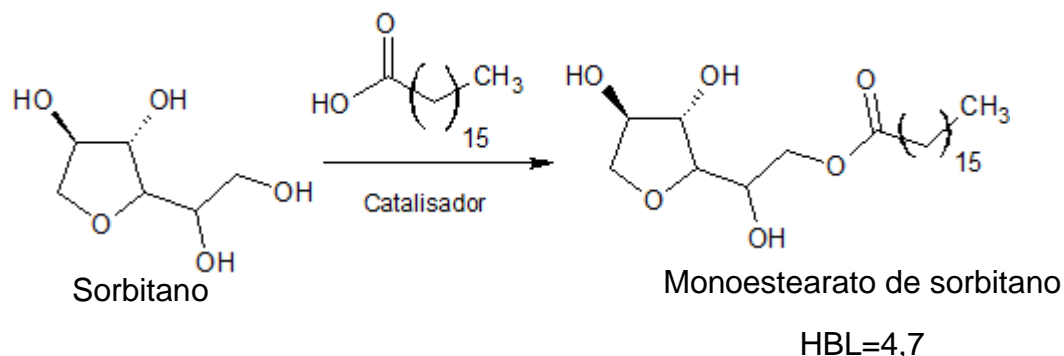
Esquema 2: Síntese do polissorbatato 80

Os surfactantes da série Tween apresentam emprego variado. Frequentemente são utilizados como coadjuvantes em preparações medicamentosas antitumorais e como estabilizantes de preparação injetáveis. Também é possível ver sua utilização frequente em indústria alimentícia, no papel de aditivo, e em cosméticos na preparação de emulsões para aplicação tópica (PRETÉ, 2000).

2.4.2.2. MONOESTEARATO DE SORBITANO

O monoestearato de sorbitano ou Span 60 é um éster obtido pela reação de sorbitano (um derivado do sorbitol) com o ácido esteárico (Esquema 3). É um

surfactante não iônico cujo valor de HBL é 4,7 (GRIFFIN, 1954).



Esquema 3: Síntese monoestearato de sorbitano

Jäger e colaboradores (2009) demonstraram a relação entre a concentração de monoestearato de sorbitano no núcleo das LNCs e a taxa de liberação de uma substância lipofílica encapsulada devido à permeabilidade relativa dos nanocarreadores. Neste estudo foram produzidas nanocápsulas de núcleo lipídico compostas de monoestearato de sorbitano e triglicerídeos de cadeia média (ácidos cáprico/caprílico) onde foi investigada a influência da variação da concentração dos componentes do núcleo lipídico na liberação do éster etílico de indometacina (IndOEt). Foi observado que aumentando a concentração de monoestearato de sorbitano ocorre um aumento de viscosidade do núcleo lipídico, e por consequência, diminuindo a permeabilidade. Em paralelo, foi observado que a presença de Span 60 nas LNCs pode modificar as propriedades de deformação das mesmas, tornando-as mais rígidas (FIEL et al., 2011). Isso pode ser interessante para a vida de administração cutânea, pois o sistema poderia ser formado de acordo com o local de ação do princípio ativo (em camadas mais superiores ou profundas da pele).

Poletto e colaboradores (2015) demonstraram que o Span 60 alterou as características das pseudo-fases das nanocápsulas e aumentou significativamente a capacidade de carga de fármaco das formulações, o que é uma vantagem tecnológica. Neste estudo também foi notada a redução da espessura da lamela cristalina da parede polimérica composta por poli(ϵ -caprolactona) quando o monoestearato de sorbitano estava presente na formulação.

2.4.3. TRIGLICERÍDEO DE CADEIA MÉDIA (TCM)

Triglicerídeos de cadeia média (TCM) são moléculas apolares formadas por ésteres de glicerol e ácidos graxos saturados. Dentre os vários lipídeos utilizados nas formulações de LNCs, destacam-se os diferentes tipos de triacilgliceróis, por serem

biocompatíveis, sendo um dos mais usados aquele constituído pelos ésteres de glicerol dos ácidos cáprico/caprílico, devido a sua ampla capacidade de solubilização de uma grande variedade de substâncias ativas (MORA-HUERTAS et al., 2010).

2.5. ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO

A decomposição de matéria orgânica é um processo natural que ocorre através de microorganismos, chamados decompositores. A biodegradação é o processamento ou modificação de moléculas orgânicas, derivadas de metabolismo ou produtos biológicos, visando à remoção ou atenuação de impactos ambientais antrópicos.

A preocupação com o meio ambiente tem nos mantido em alerta em relação a geração de novos materiais e os subprodutos que destes sejam sustentáveis. Tendo em vista que as LNCs são constituídas majoritariamente por materiais biodegradáveis, o perfil de degradação deste sistema é um tópico interessante para pesquisa.

Estudos de biodegradação de nanopartículas em solo foram pouco explorados até o momento. Nossa hipótese está centrada na utilização do solo para o tratamento de resíduos da produção de formulações de nanocápsulas poliméricas. O período necessário para a degradação é essencial, dependendo do sistema de disposição que pode ser aterro, compostagem aeróbica, digestão anaeróbica ou ambiente marinho (SHAN et al., 2008). Junto disso, o tipo de material e o tamanho a serem utilizados como fonte de energia e alimento para microorganismos são cruciais para investigar o tempo necessário para a completa degradação.

3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi estudar a biodegradação de nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico preparadas com os polímeros PCL 80 ($M_n=80 \text{ g.mol}^{-1}$) e Eudragit® S100, empregando solo simulado visando à aplicação futura como etapa de tratamento de resíduos de produção das formulações.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Pesquisa bibliográfica: nanotecnologia; nanocarreadores; nanopartículas poliméricas; estudo de biodegradação;
- 2) Preparação de nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico com revestimento de polissorbato 80;
- 3) Caracterização das formulações por difração de laser (DL), por espalhamento de luz dinâmico (DLS) e Nanosight.
- 4) Estudo de biodegradação em solo simulado das formulações desenvolvidas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

- Poli(ϵ -caprolactona) (PCL) $M_n=80000 \text{ g mol}^{-1}$
- Eudragit® S100
- Polissorbato 80 (P80)
- Monoestearato de sorbitano
- Acetona
- Etanol
- Água ultra-purificada
- Triglicerídeo dos ácidos cáprico/caprílico
- Hidróxido de sódio (NaOH)
- Ácido clorídrico (HCl)
- Cloreto de Bário dihidratado ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Perlita
- Solo

4.2. MÉTODOS

4.2.1. PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

As formulações de nanocápsulas são preparadas utilizando o método de deposição do polímero pré-formado (VENTURINI et al., 2011). Inicialmente, a fase orgânica contendo 0,5 g do polímero (PCL 80 ou Eudragit® S100), 135 mL de acetona, 0,2 g de tensoativo de baixo EHL (monoesterato de sorbitano), 800 μL de triglicerídeo dos ácidos cáprico e caprílico e 25 mL de etanol foi agitada (752A, Fisatom, Brasil) para a solubilização e dispersão dos materiais em banho de água a 40 °C. Após, esta foi injetada na fase aquosa contendo 0,35 g de polissorbato 80 e 285 mL de água ultrapura sob agitação moderada durante 10 minutos. A mistura turva foi posteriormente concentrada sob pressão reduzida a um volume final de aproximadamente 50 mL, ajustado em balão volumétrico. A formulação contendo LNC com parede de PCL 80 foi denominada LNC 80, enquanto a de Eudragit® S100 foi denominada LNC S100. As LNC 80 e LNC S100 foram preparadas em triplicata de lotes.

4.2.2. CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES

As formulações de LNC foram caracterizadas pelas técnicas de difração laser (Mastersizer® 2000, Malvern, Reino Unido), espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial zeta em Zetasizer® (Nano ZS, Malvern, Reino Unido). As medidas de pH foram realizadas em potenciômetro (DM-22, Digimed, Brasil) à 25 °C e o número de partículas foi determinado por meio da técnica de análise de rastreamento de nanopartículas (NTA) em NanoSight (LM10, Nanosight, Reino Unido).

4.2.3.1 ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO

A metodologia utilizada para os testes de biodegradação das LNCs foi baseada em alguns parâmetros relatados por Chiellini e colaboradores (2003), e Montagna e colaboradores (2014) adaptado de acordo com ASTM D 5338-9813 (ASTM Internacional, 2015) e D6003 (ASTM Internacional, 1996). O nível de biodegradação foi estimado através da mineralização dos átomos de carbono das LNCs evoluindo para CO₂, que foi retido em uma solução de NaOH. Para os ensaios de biodegradação foi utilizada uma câmara respirométrica (Figura 6) que consiste em uma camada de perlita* (±3 g), a amostra (50 mL) enterrada em solo (±60 g), outra camada de perlita (±3 g) e, em um tubo Falcon perfurado, solução aquosa de NaOH a 0,25 mol L⁻¹ (20 mL) . Esta câmara respirométrica é posta em estufa a 60 °C.

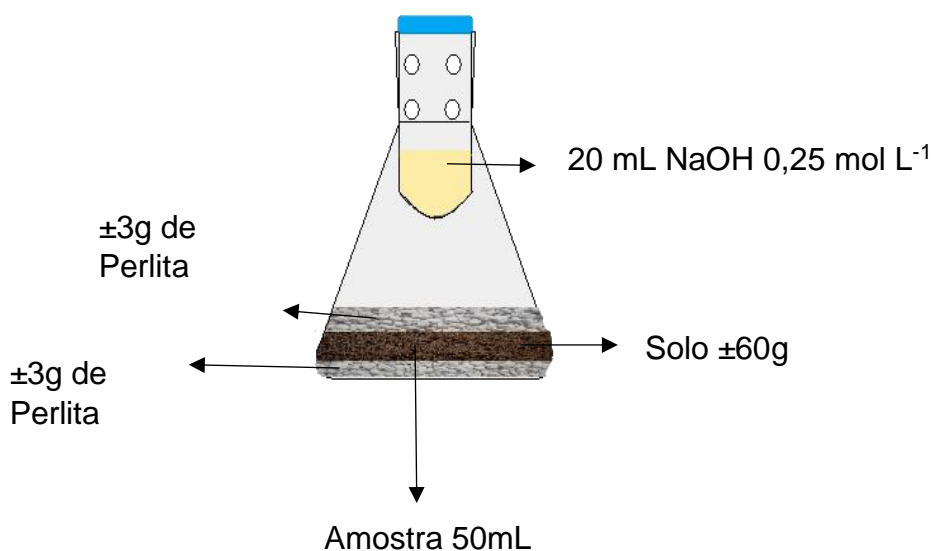


Figura 6: Câmara respirométrica para ensaio de biodegradação de LNCs

*A perlita é um tipo de vidro vulcânico de composição riolítica, 70–75% SiO₂, com um conteúdo em água relativamente alto.

Após uma semana, retira-se uma alíquota de 10 mL de NaOH que foi titulada com uma solução de HCl a 0,1 mol L⁻¹ após a adição de 1 mL de solução de BaCl₂ a 0,25 mol L⁻¹ e gotas do indicador de pH (solução alcoólica de fenolftaleína a 0,1%). A quantidade de dióxido de carbono produzido durante o período de incubação foi determinado como uma porcentagem da quantidade teórica de CO₂ produzido nos espaços em branco (misturas de solos sem fonte de carbono adicional) durante o tempo de incubação. O restante da solução de NaOH presente no tubo Falcon foi descartado e, então, adicionados novamente 20 mL da solução de NaOH a 0,25 mol L⁻¹ para ficar na câmara respirométrica por mais 7 dias para posterior retirada de alíquota e titulação sucessivamente.

Para o cálculo da quantidade de CO₂ acumulado, junto com as câmaras respirométricas contendo as amostras, utilizasse um branco. Este branco consiste no solo umedecido com 50 mL de água ultrapura. Também, preparou-se controles negativos e positivos. O controle positivo consistiu de 0,5 g de papel filtro picado enterrados no solo umedecido com 50 mL de água ultrapura e o controle negativo contendo 0,5 g de polipropileno.

4.2.2.2. DETERMINAÇÃO DO CO₂ GERADO

A biodegradação pode ser observada através do acúmulo de CO₂ produzido pelo processo de metabolismo dos organismos vivos presentes no solo. Foi calculado indiretamente através do método descrito por ISO 17556 (2003) e baseado em alguns parâmetros reportados por Montagna e colaboradores (2014). Em contato com a solução básica de hidróxido de sódio, o CO₂ reage formando Na₂CO₃, que precipita com uma solução aquosa de BaCl₂ formando um pó branco correspondente ao BaCO₃ de acordo com as equações químicas 1 e 2.



A quantidade de NaOH que não reage com o CO₂ é titulada conforme descrito acima. Considerando que a reação de NaOH e HCl (equação 3) ocorre na proporção molar 1:1, o número de mols de HCl gastos é igual ao número de mols de NaOH que não reagiram com o dióxido de carbono.



Sendo assim, é possível calcular o quanto em massa de CO₂ foi formada através da Equação matemática 1.

$$m = \left[\left(\frac{2 * [\text{NaOH}] * V_{\text{NaOH}}}{[\text{HCl}]} \right) - \left(\frac{V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{NaOH alíq}}} * V_{\text{HCl}} \right) \right] * [\text{NaOH}] * 22 \quad (\text{Equação 1})$$

onde, [HCl] é a concentração do HCl (0,1 mol L⁻¹), [NaOH] é a concentração do NaOH (0,25 mol L⁻¹), V_{NaOH} é o volume de NaOH no início do teste (20mL), V_{NaOH alíq} é o volume de alíquota de solução de NaOH usada na titulação (10mL), V_{HCl} é o volume de solução de HCl usado na titulação e 22 é metade da massa molar de CO₂, porque a proporção molar (Equação química 1) é 1:2, CO₂ e NaOH.

Para comparação, realizou-se ensaio de biodegradação empregando um controle positivo, ou seja, um material biodegradável que consiste em 0,5 g de papel filtro e um controle negativo, não biodegradável, de 0,5 g de polipropileno. O estudo aconteceu num período de 90 dias com titulações semanais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS LNC 80 E LNC S100

Para conhecimento do diâmetro médio e o índice de polidispersão das LNCs desenvolvidas, realizam-se as técnicas de difração laser (DL) e espalhamento de luz dinâmico (DLS). Também, através da técnica de difração é possível mensurar a área superficial específica das nanopartículas.

O diâmetro médio D_[4,3] variou de 140 a 167 nm por difração de laser (DL) e por espalhamento de luz dinâmico (DLS) o diâmetro médio (Dz) foi de 148 a 182 nm para as formulações de LNCs (Tabela 1). O índice de polidispersão das formulações variaram de 1,13 a 1,49 (DL) e 0,137 a 0,177 (DLS). A área superficial específica variou de 43,9 a 51,5 m².g⁻¹ e a densidade de partículas variou de 3,40x10¹² a 1,49x10¹³ partículas por mililitro de formulação (Tabela 1).

Tabela 1: D_[4,3] -diâmetro médio, SPAN-índice de polidispersão e a ASE-área superficial específica por Difração de Laser (DL); Dz-diâmetro médio e PDI-índice de polidispersão espalhamento de luz dinâmico (DLS); PND – Densidade do número de partículas.

Formulações	D _[4,3]	SPAN	ASE (m ² /g) *	Dz	PDI	PND(nº de partículas/mL)
LNC 80	155±15	1,264±0,14	47,7±3,8	165±17	0,157±0,020	7,08x10 ¹² ±3,68x10 ¹²
LNC S100	162±5	1,342±0,15	49,3±1,4	163±3	0,148±0,009	1,00x10 ¹³ ±4,90x10 ¹²

A dispersão de diâmetro das LNCs é um importante parâmetro de qualidade, uma vez que pode influenciar mecanismos biológicos tais como estabilidade química e *uptake* celular. Em relação a dispersão do sistema coloidal, sugere-se que valores de SPAN abaixo de 2 são adequados para a aplicação biomédica. Os valores de polidispersão calculados para as formulações de LNC são menores que 1,4. Isso indica que a dispersão de tamanhos das partículas encontra-se numa faixa estreita de diâmetros, demonstrando a uniformidade. Portanto, foram obtidas nanocápsulas poliméricas com distribuição unimodal (Figuras 7 e 8) de tamanhos com baixa polidispersão.

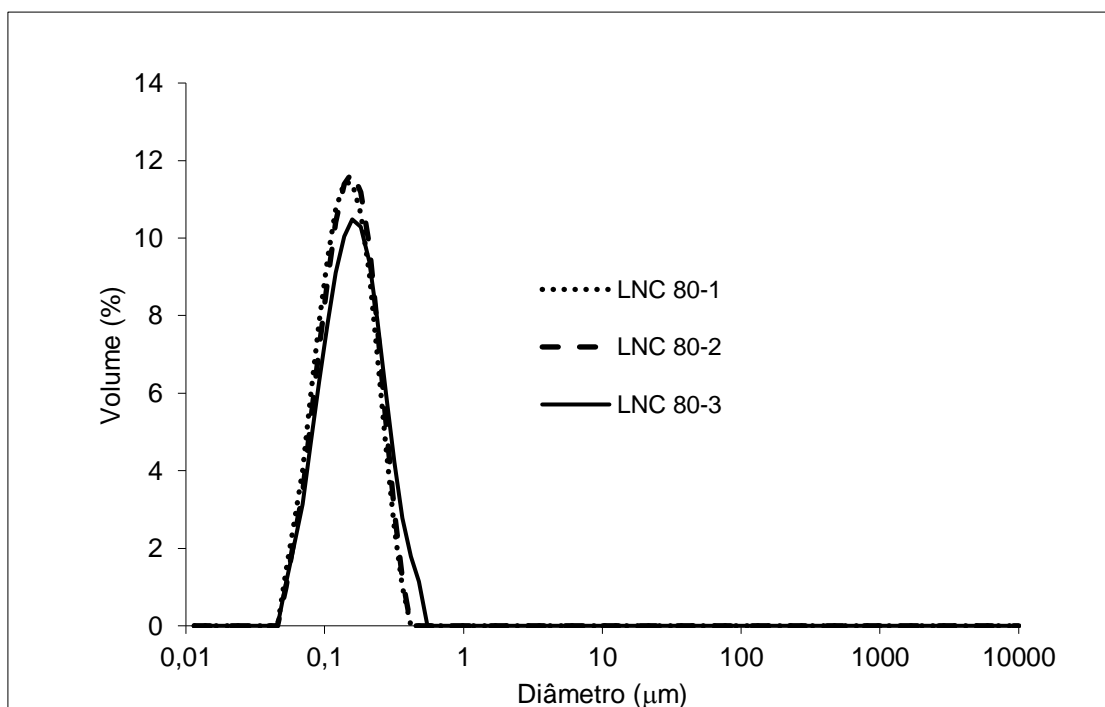


Figura 7: Distribuição de diâmetros dos três lotes de LNC 80 por difração de laser (DL).

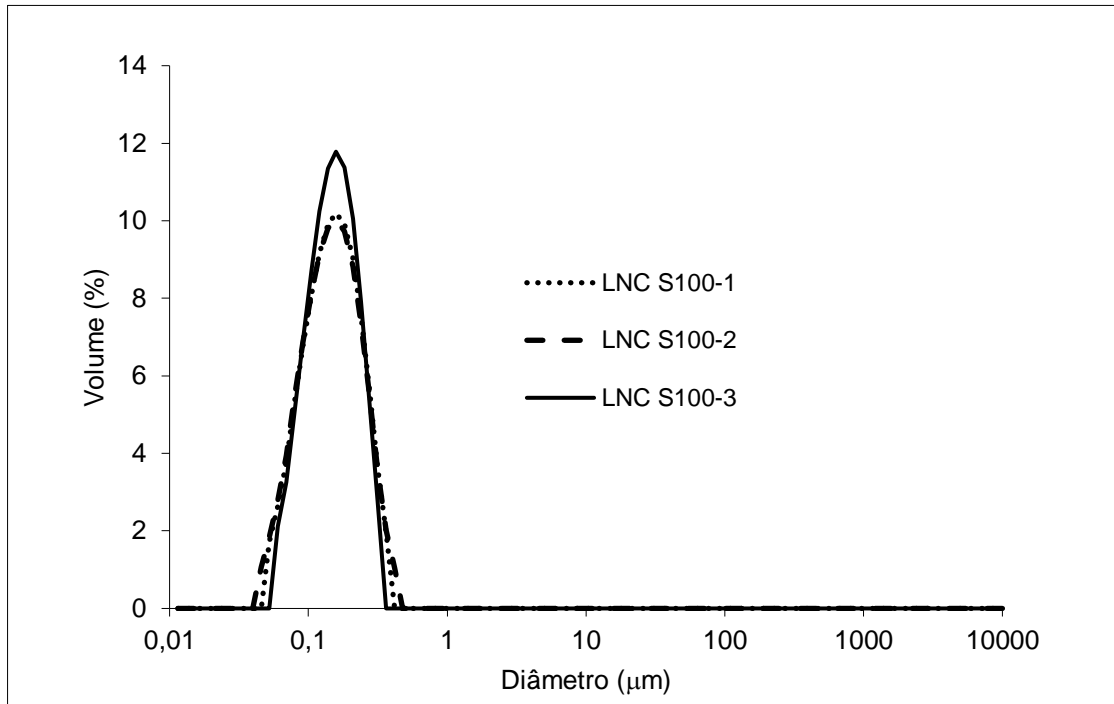


Figura 8: Distribuição de diâmetros dos três lotes de LNC S100 por difração de laser (DL).

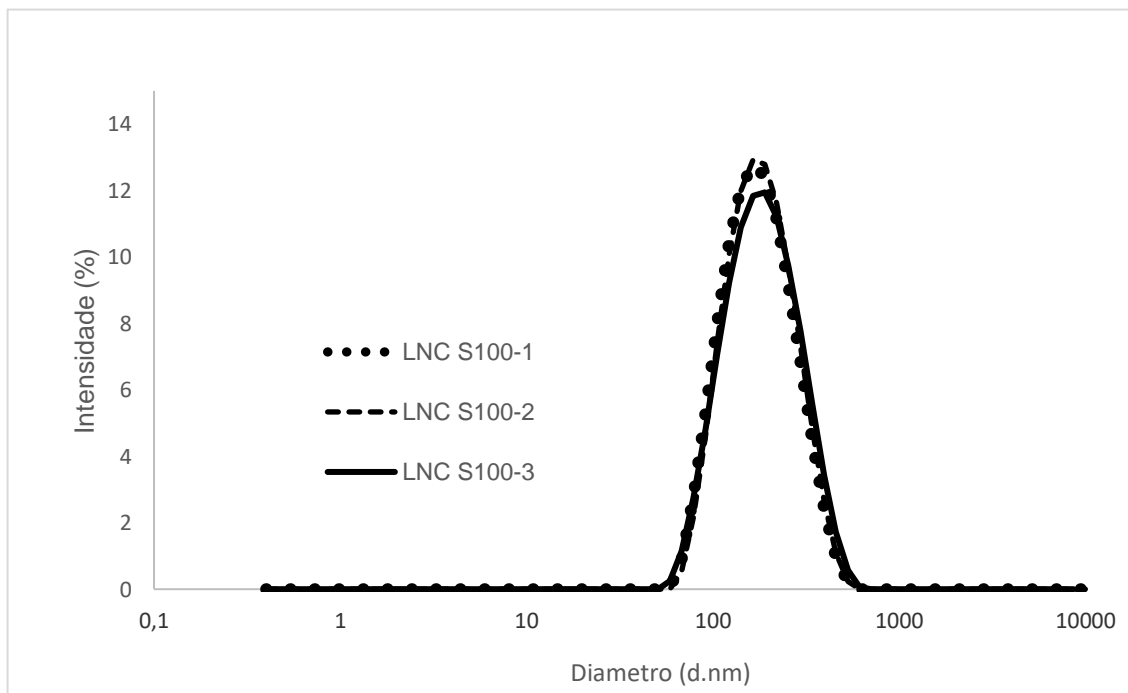


Figura 9: Distribuição de diâmetros das LNCs S100 por espalhamento de luz dinâmico (DLS).

Através da técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) foram medidos o tamanho das LNCs (Dz) (Tabela 1). A análise nos mostrou, assim como para a técnica de difração laser, que as formulações de nanocápsulas apresentam uma distribuição

unimodal (Figuras 9 e 10). Por esta técnica também foi possível notar um baixo índice de polidispersão para as formulações.

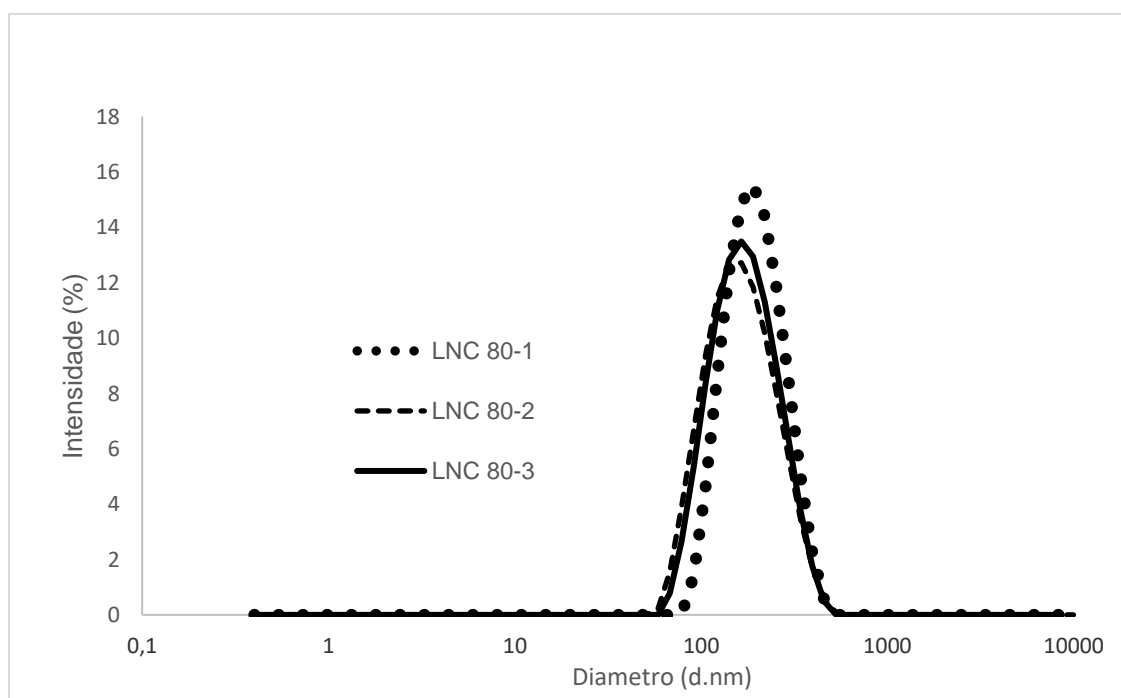


Figura 10: Distribuição diâmetros das LNCs 80 por espalhamento de luz dinâmico (DLS).

O potencial zeta representa o potencial de superfície das partículas, podendo ser influenciado pela alteração na interface com o meio dispersante decorrente da dissociação de grupos funcionais na superfície das partículas ou devido a adsorção de espécies iônicas no meio dispersante (SHAFFAZICK et al., 2003, AULTON, 2005). As características de superfície são importantes pois, tal como o diâmetro, podem alterar a resposta biológica do fármaco associado a nanocápsula. Também pode ser útil para elucidação do mecanismo de associação do fármaco às nanopartículas.

Os valores de potencial zeta das formulações de LNCs variaram de -8 a -15 mV, cujas médias são apresentadas na Tabela 2. Conforme os gráficos de distribuição de potencial zeta (Figuras 11 e 12), o potencial foi negativo para ambas formulações. Os valores abaixo de 20 mV (em módulo) são devidos ao revestimento de polissorbato 80, um surfactante não-iônico polioxigenado. Desta forma, o mecanismo predominante de estabilização dos sistemas coloidais é por impedimento estérico e não por repulsão eletrostática. O pH variou de 4,09 a 5,57 e a diferença de potencial foi de 118 a 145 mV com as médias apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Potencial zeta; pH e DP-diferença de potencial em milivolts das formulações

Formulações	Zeta (mV)	pH	DP (mV)
LNC 80	-10±2	4,92±0,65	127±9
LNC S100	-12±3	4,12±0,03	141±4

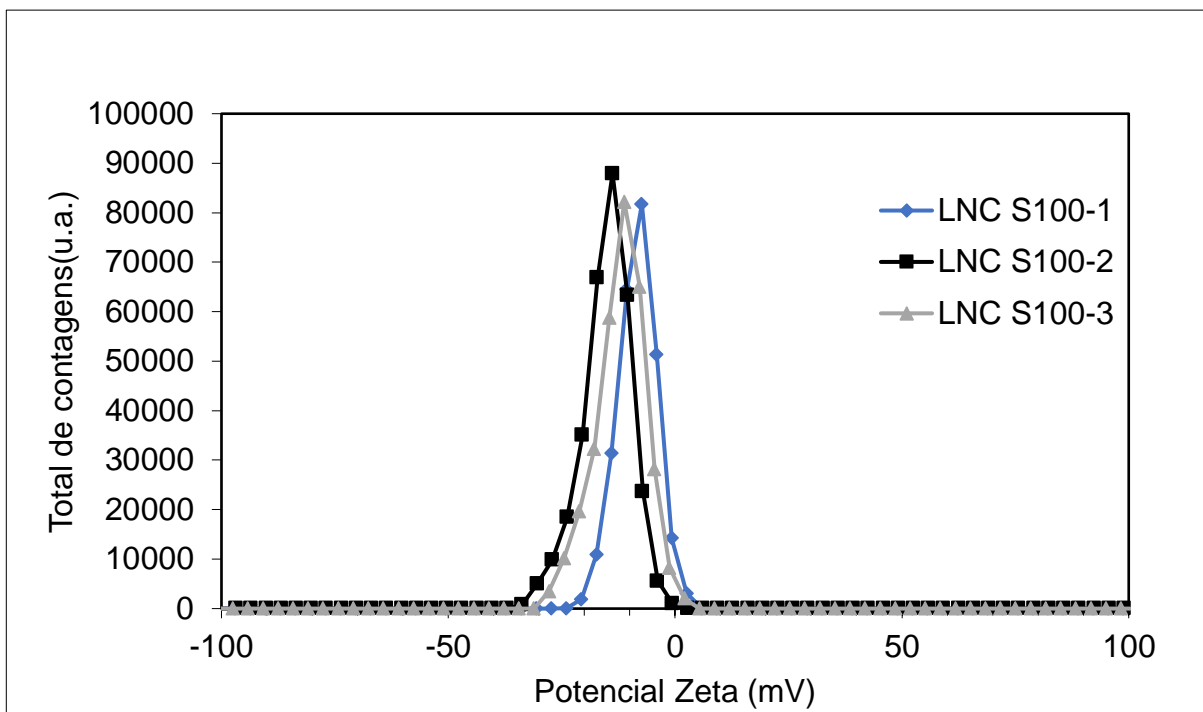


Figura 11: Potencial Zeta das formulações LNC S100

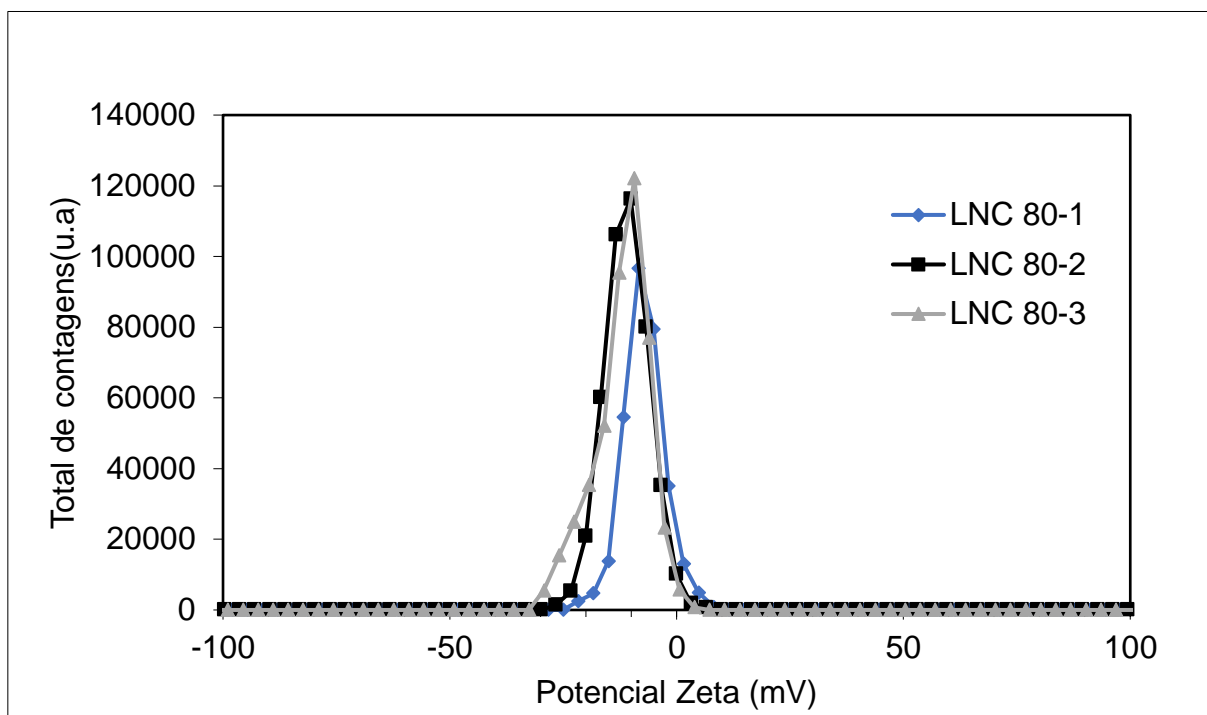


Figura 12: Potencial Zeta das formulações LNC 80

5.2. ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO

Após o período de incubação de 90 dias, foi possível observar a geração de CO_2 na câmara respirométrica. O resultado do ensaio de biodegradação é apresentado na Figura 13.

O acúmulo de CO_2 na amostra negativa se manteve praticamente constante nos 90 dias. Também se observa o crescente e maior acúmulo de CO_2 para o controle positivo. A acumulação de CO_2 para a LNC 80 foi maior do que para a LNC S100 e pode ser explicada por causa da natureza do polímero. A PCL é um polímero biodegradável em cultura de fungos (FIELDS et al. 1974; BENEDICT et al. 1983a, b; ODA et al. 1995; MURPHY et al. 1996), compostagem (OHTAKI et al. 1998) e diferentes solos (NISHIDA and TOKIWA 1993; DOI et al. 1996; TONCHEVA et al.

1996). Já o Eudragit® S100 não é biodegradável (THAKRA et al., 2013). Logo, verifica-se que os demais componentes das LNCs se degradaram no teste de solo simulado.

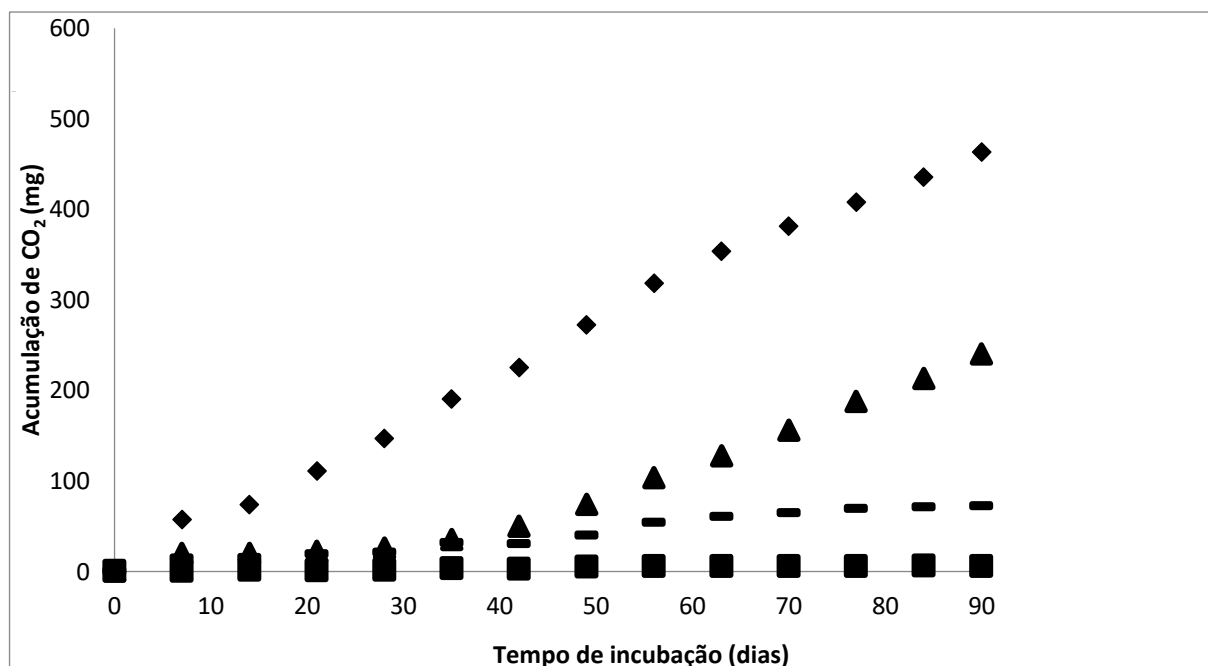


Figura 13: Produção média de CO₂ acumulado em mg/60g de solo nos respirômetros para papel filtro (controle positivo), negativo (polipropileno) e os lotes de LNC S100 e LNC 80.

Verifica-se também que o acúmulo de CO₂ teve um crescimento mais acentuado após passado 40 dias. Como dito anteriormente, a PCL tem lenta degradação o que torna a sua escolha uma boa alternativa na liberação sustentada de fármacos. Em estudos recentes do grupo, foi verificada uma maior acumulação de CO₂ para a amostra de LNC com a parede polimérica composta pela PCL $M_n=10000$ g.mol⁻¹ em comparação com a LNC 80. Estes dados corroboram com estudos de estabilidade que mostram uma maior perda de massa para as LNCs compostas por parede polimérica de menor massa molecular (CALGAROTO, 2018). Os valores de média e desvio padrão para o ensaio de biodegradação encontram-se na tabela 3.

Tabela 3: Produção média de CO₂ acumulado em mg/60g de solo nos respirômetros para papel filtro (controle positivo), negativo(polipropileno) e os lotes de LNC S100 e LNC 80.

Dias	Positivo (mg)	Negativo (mg)	LNC 80 (mg)	LNC S100 (mg)
7	57,2±0,3	0,0±0,1	19,8±0,5	14,7±0,1
14	73,9±0,2	0,3±0,2	19,8±0,2	15,0±0,1
21	110,7±0,1	0,7±0,3	22,2±0,7	18,9±0,4
28	146,5±1,1	1,3±0,4	25,5±0,3	21,1±0,2
35	190,5±2,0	2,9±0,7	34,8±0,5	31,5±0,4
42	225,1±0,7	2,4±0,3	50,0±0,7	30,6±1,2
49	271,9±0,2	5,1±0,2	74,0±0,8	39,6±0,9
56	318,1±0,2	5,3±0,4	103,2±0,7	53,7±0,5
63	353,3±1,0	5,7±0,4	127,8±0,4	60,3±0,8
70	381,3±0,9	5,7±0,1	156,0±0,3	64,3±0,2
77	407,7±1,3	5,8±0,2	187,5±0,2	69,5±0,1
84	435,2±0,6	5,9±0,6	212,8±0,5	70,9±0,5
90	463,3±0,2	5,7±0,1	240,0±1,2	72,0±0,3

Verifica-se que nos quarenta dias iniciais, o acúmulo médio de CO₂ das amostras de LNC 80 e LNC S100 possuem valores relativamente próximos, quando comparado com o controle negativo e o positivo. Tal comportamento dá-se a degradação do polisorbato presente na interface com a água. Passado este período, verifica-se um maior acúmulo de CO₂ para as LNCs 80, uma vez que sua parede polimérica é constituída de um polímero biodegradável (PCL), enquanto a LNC S100 tem seus demais constituintes degradados com a excessão da parede polimérica (Eudragit® S100).

6. CONCLUSÕES

As formulações de LNC 80, utilizando o polímero poli(ϵ -caprolactona) $M_n=80000 \text{ g mol}^{-1}$, e a LNC S100, utilizando Eudragit® S100 obtidas pelo método deposição do polímero pré-formado, apresentaram diâmetros de partículas unimodais e nanoscópicas adequadas para futuras aplicações farmacêuticas.

Foi possível verificar que o emprego de diferentes polímeros nas formulações nos fornece características físico-química diferentes. Tais diferenças são importantes na escolha de um fármaco a ser encapsulado com as formulações desenvolvidas, uma vez que o perfil de liberação do fármaco está ligado as características da partícula bem como o alvo que se deseja atingir.

O ensaio de biodegradação obteve um resultado positivo para geração de CO_2 , o que nos permite concluir que as formulações foram degradadas durante o período de incubação. Concluí-se que as formulações de LNC 80 degradaram mais durante o tempo de incubação do que as LNC S100 devido à natureza do polímero (biodegradável X não-biodegradável). Neste ensaio, também foi possível evidenciar a segurança destes sistemas, o que demonstra a confiabilidade no seu tempo de prateleira, haja vista que é um produto de uso farmacêutico.

Para este trabalho, o teste de solo simulado se mostrou viável e de fácil realização, podendo ser aplicado em outras formulações para o conhecimento de uma informação tão valiosa que é o perfil de degradação das nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico.

BIBLIOGRAFIA

ASTM D6003-96, Standard Test Method for Determining Weight Loss From Plastic Materials Exposed to Simulated Municipal Solid-Waste (MSW) Aerobic Compost Environment (Withdrawn 2005), **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 1996

ASTM D5338-15, Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions, Incorporating Thermophilic Temperatures, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2015,

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. 2005. 678 p.

BRANNON-PEPPAS, L. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics** v. 116, n. 1, p.1-9, 1995. . [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(94\)00324-x](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(94)00324-x)

BENEDICT, C. V. et al. Fungal degradation of polycaprolactones. **Journal Of Applied Polymer Science**, v. 28, n. 1, p.327-334, 1983.

CALGAROTO, S. et al. Chemical stability, mass loss and hydrolysis mechanism of sterile and non-sterile lipid-core nanocapsules: The influence of the molar mass of the polymer wall. **Reactive And Functional Polymers**, v. 133, p.161-172, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.09.018>

CAO, G. ; WANG, Y. **Nanostructures and nanomaterials: synthesis, properties and applications**. 2. ed. World Scientific. 2011 p.3

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

CHAU, C.; WU, S.; YEN, G. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends In Food Science & Technology** v. 18, n. 5, p.269-280, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.007>

CHIELLINI, E.; CORTI, A.; SWIFT, G. Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes. **Polymer Degradation And Stability** v. 81, n. 2, p.341-351, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0141-3910\(03\)00105-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0141-3910(03)00105-8).

CHOURASIA, M. K.; JAIN, S. K. Design and Development of Multiparticulate System for Targeted Drug Delivery to Colon. **Drug Delivery** v. 11, n. 3, p.201-207, 2004. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10717540490445955>.

DOI, Y. et al. Evaluation of biodegradabilities of biosynthetic and chemosynthetic polyesters in river water. **Polymer Degradation And Stability** v. 51, n. 3, p.281-286, 1996. . [http://dx.doi.org/10.1016/0141-3910\(95\)00178-6](http://dx.doi.org/10.1016/0141-3910(95)00178-6).

DOMB, J. A. et al. Biodegradable polymers as drug delivery systems. **Polymeric Biomaterials**, p. 91-121, 2002

ESPUELAS, M. S. et al. In Vitro Antileishmanial Activity of Amphotericin B Loaded in Poly(ϵ -Caprolactone) Nanospheres. **Journal Of Drug Targeting** v. 10, n. 8, p.593-599, 2002. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1061186021000060738>.

FESSI, H. et al. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal Of Pharmaceutics** v. 55, n. 1, p.R1-R4, 1989. . [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(89\)90281-0](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(89)90281-0).

FIEL, L. A. et al. Diverse deformation properties of polymeric nanocapsules and lipid-core nanocapsules. **Soft Matter** v. 7, n. 16, p. 7240-7247, 2011. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c1sm05508a>.

FIELDS, R. D.; RODRIGUEZ, F.; FINN, R. K. Microbial degradation of polyesters: Polycaprolactone degraded by *P. pullulans*. **Journal Of Applied Polymer Science** v. 18, n. 12, p. 3571-3579 1974. <http://dx.doi.org/10.1002/app.1974.070181207>.

GRIFFIN, W. C. Classification of Surface Active Agents by HLB. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, 1, p. 311-326, 1949(a)

GRIFFIN, W. C. Calculation of HLB values of Nonionic Surfactants, **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, 5, p. 249-256, 1954.(b)

International Organization for Standardization: ISO 17556:2003. Plastics—Determination of the Ultimate Aerobic Biodegradability in Soil by Measuring the Oxygen Demand in a Respirometric or the Amount of Carbon Dioxide Evolved. International Organization for Standardization, Online Browsing Platform, 2003.

JÄGER, E. et al. Sustained Release from Lipid-Core Nanocapsules by Varying the Core Viscosity and the Particle Surface Area. **Journal Of Biomedical Nanotechnology** v. 5, n. 1, p.130-140, 2009. <http://dx.doi.org/10.1166/jbn.2009.1004>.

JENKINS, M. J.; HARRISON, K. L.. The effect of molecular weight on the crystallization kinetics of polycaprolactone. **Polymers For Advanced Technologies** v. 17, n. 6, p. 474-478, 2006. <http://dx.doi.org/10.1002/pat.733>

KHATIK, R. et al. Colon-specific delivery of curcumin by exploiting Eudragit-decorated chitosan nanoparticles in vitro and in vivo. **Journal Of Nanoparticle Research** v. 15, n. 9, p. 1-15, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-013-1893-x>

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. I. **The theory and practice of industrial pharmacy**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LEGRAND, P. et al. Polymeric nanocapsules as drug delivery systems: a review. **S.T.P. Pharma Sci.**, Paris v.9, p. 411-418, 1999.

MISHRA, B.; PATEL, Bhavesh B.; TIWARI, S. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine** v. 6, n. 1, p. 9-24, 2010. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.008>.

MONTAGNA, L. S.; FORTE, M. M. C.; SANTANA, R. M. C. Study on the accelerated biodegradation of PP modified with an organic pro-degradant additive. **Journal Of**

Applied Polymer Science v. 131, n. 22, p. 1-5, 2014.
<http://dx.doi.org/10.1002/app.41054>.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics** v. 385, n. 1-2, p. 113-142, 2010. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.10.018>.

MUDSHINGE, S. R. et al. Nanoparticles: Emerging carriers for drug delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal** v. 19, n. 3, p. 129-141, 2011. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2011.04.001>.

MURPHY, C. A. et al. Fusarium polycaprolactone depolymerase is cutinase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 456–460, 1996.

NISHIDA, H.; TOKIWA, Y. Distribution of poly(β -hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone) aerobic degrading microorganisms in different environments. **Journal Of Environmental Polymer Degradation** v. 1, n. 3, p. 227-233, 1993. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01458031>.

ODA, Y. et al. Microbial degradation of poly(β -hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone) by filamentous fungi. **Journal Of Fermentation And Bioengineering** v. 80, n. 3, p. 265-269, 1995. [http://dx.doi.org/10.1016/0922-338x\(95\)90827-m](http://dx.doi.org/10.1016/0922-338x(95)90827-m).

OHTAKI, A. ; AKAKURA, N.; NAKASAKI, K. Effects of temperature and inoculum on the degradability of poly- ϵ -caprolactone during composting. **Polymer Degradation And Stability** v. 62, n. 2, p. 279-284, 1998. . [http://dx.doi.org/10.1016/s0141-3910\(98\)00008-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0141-3910(98)00008-1).

POHLMANN, A. R. et al. Poly(ϵ -caprolactone) microcapsules and nanocapsules in drug delivery. **Expert Opinion On Drug Delivery** v. 10, n. 5, p. 623-638, 7 2013. <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2013.769956>.

POLETTI, F. S. et al. How Sorbitan Monostearate Can Increase Drug-Loading Capacity of Lipid-Core Polymeric Nanocapsules. **Journal Of Nanoscience And Nanotechnology** v. 15, n. 1, p. 827-837, 2015. <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2015.9182>.

PRAKASH, S. et al. Polymeric nanohybrids and functionalized carbon nanotubes as drug delivery carriers for cancer therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 63, n. 14-15, p. 1340-1351, 2011. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2011.06.013>.

PRETÉ, P. S. C. **Solubilização de membranas de eritrócitos por surfactantes da série Tween**. 2000. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

RIEUX, A. D. et al. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach. **Journal Of Controlled Release** v. 116, n. 1, p.1-27, 2006. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.08.013>.

SAHOO, S. K.; PARVEEN, S.; PANDA, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine** v. 3, n. 1, p. 20-31, 2007. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2006.11.008>.

SCHAFFAZICK, S. R. et al . Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo , v. 26, n. 5, p. 726-737, Oct. 2003.

SCHULZ, Peter A.. Há mais história lá embaixo - um convite para rever uma palestra. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo , v. 40, n. 4, e 4210, 2018 .

SHAH, Amer Ali et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances** v. 26, n. 3, p.246-265, 2008. .
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>.

SINHA, V.R. et al. Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. **International Journal Of Pharmaceutics** v. 278, n. 1, p. 1-23, 2004. .
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.01.044>.

TADROS, T.F. **Applied Surfactants: Principles and Applications**. Berkshire: Wiley, 2005.

THAKRAL, S.; THAKRAL, N. K.; MAJUMDAR, D. K. Eudragit®: a technology evaluation. **Expert Opinion On Drug Delivery** v. 10, n. 1, p. 131-149, 2012. Informa Healthcare. <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2013.736962>.

TONCHEVA, V. et al. Synthesis and environmental degradation of polyesters based on poly (ϵ -caprolactone). **Journal Of Environmental Polymer Degradation** v. 4, n. 2, p. 71-83, 1996. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/bf02074868>.

VANDAMME, T. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. **Carbohydrate Polymers** v. 48, n. 3, p. 219-231, 2002. .
[http://dx.doi.org/10.1016/s0144-8617\(01\)00263-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0144-8617(01)00263-6).

VENTURINI, C. G. et al. Formulation of lipid core nanocapsules. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** v. 375, n. 1-3, p. 200-208, 2011. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.12.011>.

WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress In Polymer Science** v. 35, n. 10, p. 1217-1256, 2010. . <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>.