

Encapsulação de ativos naturais em lipossomas e prolipossomas

Universidade de São Paulo

Disciplina de Encapsulação de Produtos Farmacêuticos

Docente: Professor Dr. Wanderley

Discente: Paola de Souza Sanches





Introdução



Muitos ativos naturais são compostos instáveis e podem sofrer reações que levam à diminuição ou perda de eficácia e degradação do produto.

Os lipossomas podem ser utilizados para proteger bioativos de interesse, bem como modificar o perfil de liberação.

Vitaminas,
flavonoides,
carotenoides,
curcuminoides,
óleos essenciais e
hidrolisados
proteicos





Introdução



Lipossomas

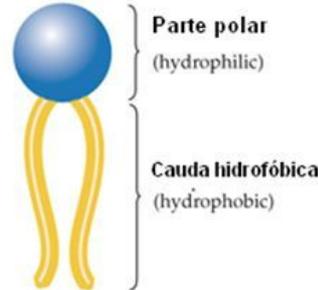
Sistemas lipídicos dispersos



Lipossoma

Fosfolipídios

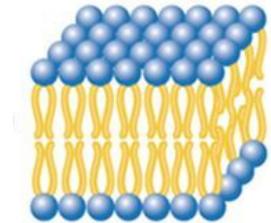
Se organizam espontaneamente em bicamadas



Lipídio

Vesículas esféricas

Circundam uma cavidade interna aquosa



Bicamada Lipídica



Fosfolipídios

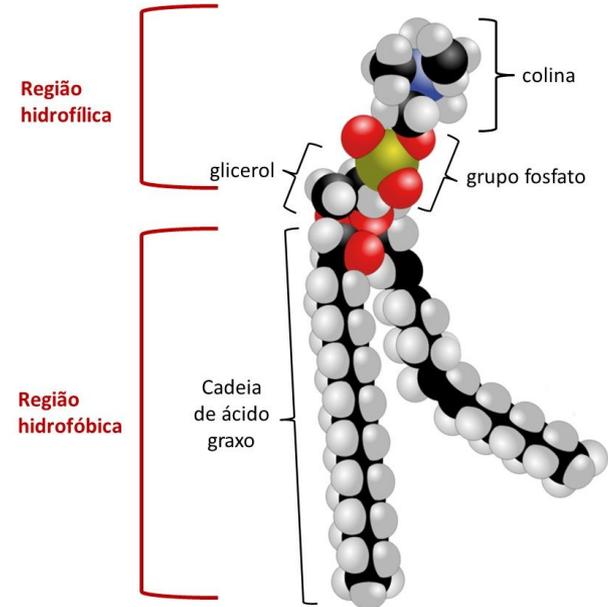


Forma cilíndrica

fosfatidilcolinas,
fosfatidilserina,
fosfatidilglicerol,
esfingomiéline

Mais abundantes em plantas e animais

Fosfatidilcolina
(lecitina) e
fosfatidiletanolamina





Lipossomas



Moléculas Hidrofílicas

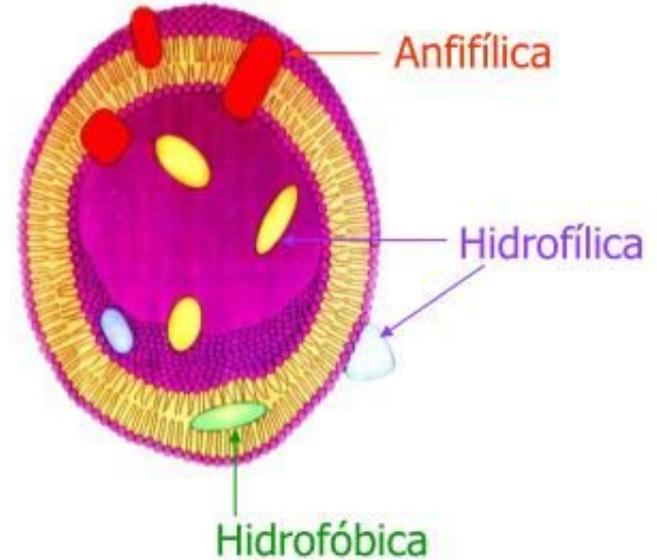
Cavidade interna

Moléculas Lipofílicas

Região apolar da bicamada

Moléculas Anfifílicas

Regiões apolares e polares do lipossoma





Lipossomas



Boa eficiência de encapsulação,
baixíssima toxicidade e
proteção ao ativo encapsulado
contra fatores degradantes
como pH e exposição à luz..

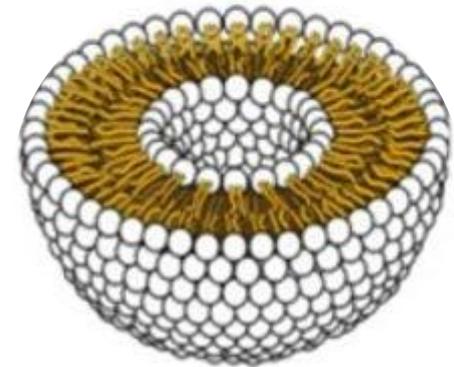
**Diversas
vantagens**

aumento da bioacessibilidade e biodisponibilidade
de compostos funcionais hidrofóbicos,
minimizando os efeitos prejudiciais às células
saudáveis e otimizando o consumo do fármaco

**Biodegradáveis,
biocompatíveis
e não-
imunogênicos**

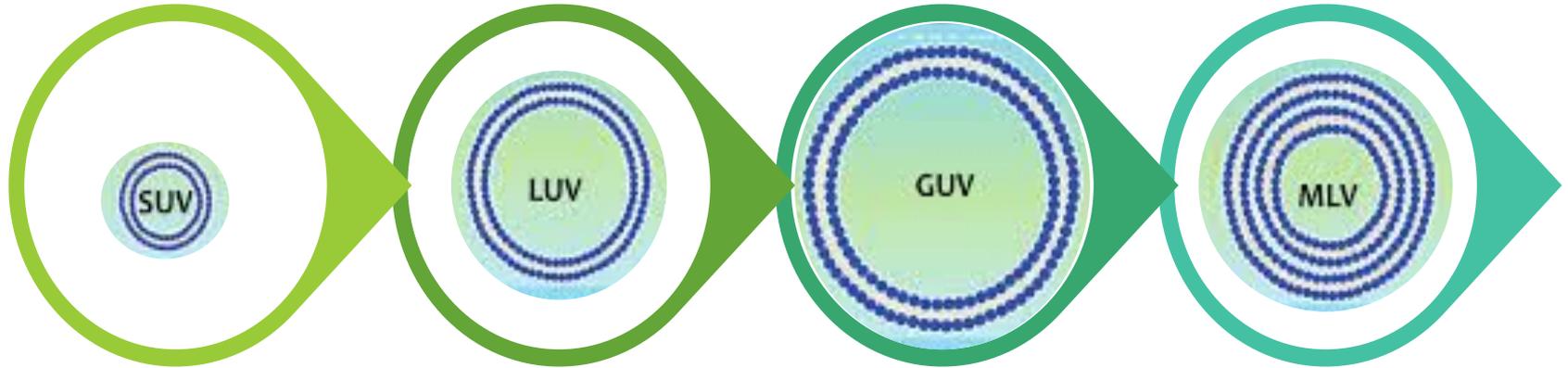
**Lipid-Based
Drug Delivery
(LBDD)**

Altamente versáteis para
pesquisa, terapêutica e
aplicações em diversas
áreas.





Lipossomas



SUV

small unilamellar vesicles -
vesículas unilamelares
pequenas - 20-100 nm

LUV

Large unilamellar vesicles -
vesículas unilamelares
grandes 100 - 1000 nm

GUV

Giant unilamellar vesicles -
vesículas unilamelares
gigantes 1-200 μm

MLV

Multilamellar large
vesicles - vesículas
multilamelares grandes



Lipossomas



Solubilização dos lipídios em um solvente orgânico

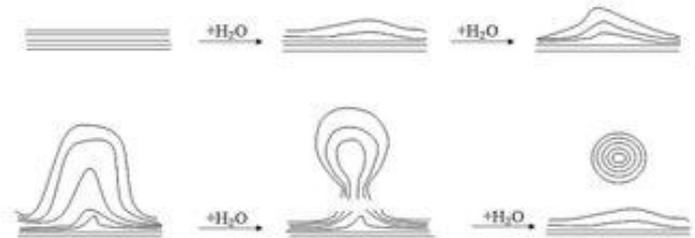
Evaporação do solvente

Formação do filme lipídico

Hidratação do filme lipídico seco

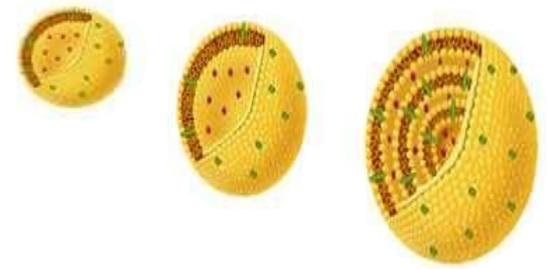
Adição de um meio aquoso sob agitação mecânica vigorosa

Dispersão de lipossomas multilamelares





Lipossomas



Desvantagens



- Baixo encapsulamento para fármacos hidrofílicos,
- Tamanho heterogêneo das vesículas
- Necessidade de processamento posterior para homogeneização.

Dispersões homogêneas de vesículas unilamelares a partir de dispersões de MLV



- Extrusão através de membranas
- Prensa de French ou
- Homogeneizador/microfluidificador
- Sonicação

A maior parte dos lipossomas comerciais são estabilizados por liofilização - aumenta a validade do produto e o preserva na forma seca até serem reconstituídos no momento da administração



Prolipossomas



**Partículas
sólidas e secas,
de escoamento
livre**

**Fosfolípidios +
bioativo +
transportador
solúvel em água**

**Ao serem
hidratados,
permitem a
formação de MLV**

**Potencial
alternativa às
formulações aquosas
de lipossomas**

Vantagens

Fáceis de distribuir, transferir, medir e armazenar, ajudam a aumentar a eficiência de dissolução de drogas pouco solúveis.



Prolipossomas

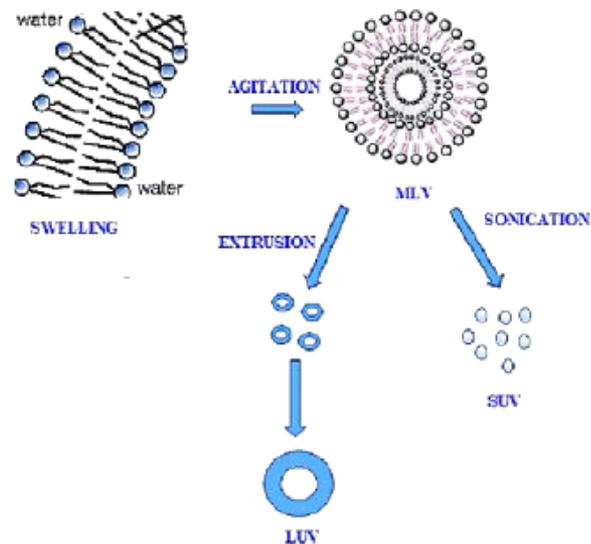
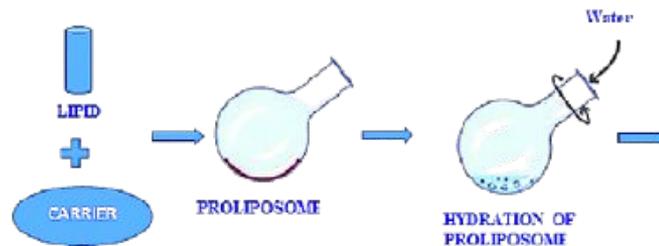


Seleção do transportador

Porosidade
Área de superfície
Permeabilidade

Transportadores mais usados

Maltodextrina,
Sorbitol,
Celulose microcristalina,
Silicatos de alumínio e magnésio,
Manitol





Prolipossomas

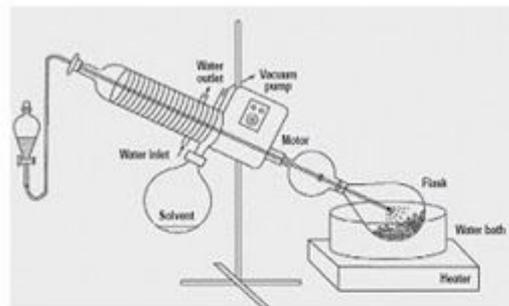


Obtenção

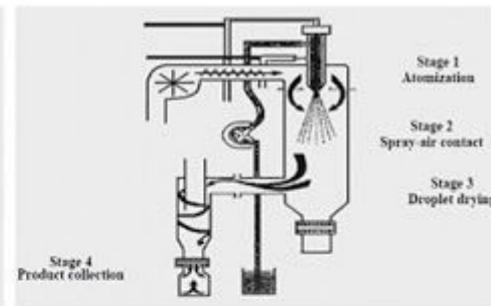
Método de deposição de filme no transportador;
spray drying;
liofilização;
leito fluidizado;
precipitação por uso de fluido supercrítico.

Método de deposição de filme no suporte

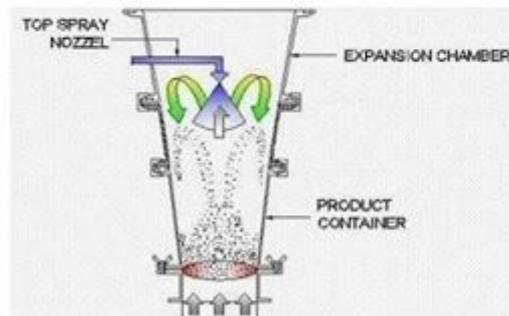
Gotejamento da solução de ativo e fosfolipídios sobre o carreador solúvel em água sob evaporação rotativa, o que permite a retirada de solvente da mistura logo após o recobrimento da sacarose.



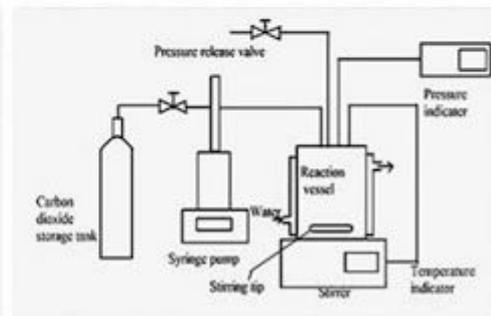
(A) Film deposition on carrier method



(B) Spray drying method



(C) Fluidized bed method



(D) Super critical anti-solvent method

Encapsulação de ativos naturais

Bioativos (ou classe de bioativos)	Referências	Bioativos (ou classe de bioativos)	Referências
Curcumina	[5] Jin, Lu e Jiang (2016)	Vitamina E	[15] Zhao et al. (2018)
Ergocalciferol	[6] Bochicchio et al. (2016)	Polifenóis de chá verde	[16] Dong et al. (2011)
Catequina e galato de espigalocatequina	[7] Rashidinejad et al. (2014)	Eugenol	[17] Sebaaly et al. (2015)
Vitamina D3 e Curcumina	[8] Chaves et al. (2018)	Beta-caroteno	[18] De Paz, Martín e Cocero (2013) [19] Moraes et al. (2013) [20] Toniazzo et al. (2014) [21] Zômpero et al. (2014) [22] Carvalho et al. (2015) [23] Michelon et al. (2016)
Fitoesteróis	[9] Zhao et al. (2015)	Extratos de hibiscus	[24] Gibis, Zeeb e Weiss (2014)
Beta-caroteno e vit C	[10] Hudyanti, Fawrin e Siahaan (2018)	Quercetina	[25] Toniazzo et al. (2017)
Extrato de Curcuma	[11] Takahashi et al. (2008)	Quercetina+ óleo de peixe	[26] Frenzel, Steffen-Heins (2015)
Reveratrol	[12] Isailovic et al. (2013)	Óleo de peixe	[27] Ghorbanzade et al. (2017)
OE de orégano	[13] Gortzi et al. (2008)	OE de trevo	[28] Sebaaly et al. (2016)
OE de <i>Eugenia uniflora</i> L.	[14] Yoshida et al. (2010)		



Referências



- [1] MUNER, S.; MASOOD, Z.; BUTT, S.; ANJUM, S.; ZAINAB, S.; ANWAR, N.; AHMAD, N. Proliposomes as Pharmaceutical Drug Delivery System: A Brief Review. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 8: 3, 2017.
- [2] FIGUEIREDO, C.X.G. Lipossoma termossensível para liberação controlada de fármacos antitumorais hidrofílicos. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia de Materiais), Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2015.
- [3] SILVA, G.S. Obtenção de prolipossomas por recobrimento de sacarose micronizada, produção de lipossomas multilamelares encapsulando curcumina e incorporação das vesículas em iogurte. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. 2018.
- [4] NAMITA, S.; POONAM, K.; USAMA, A.; MOHAMMAD, A. Proliposomes: an approach for the development of stable liposome. *ARS Pharmaceutica*, 60 : 4, 2019.
- [5] JIN, H.H.; LU, Q.; JIANG, J.G. Curcumin liposomes prepared with milk fat globule membrane phospholipids and soybean lecithin. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 99, n. 3, p. 1780–1790, 2016.
- [6] BOCHICCHIO, S. et al. Vitamin delivery: Carriers based on nanoliposomes produced via ultrasonic irradiation. *LWT - Food Science and Technology*, London, v. 69, p. 9– 16, jun. 2016.
- [7] RASHIDINEJAD, A.; BIRCH, E.J.; SUN-WATERHOUSE, D.; EVERETT, D.W. Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese. *Food Chemistry*, v. 156, p. 176-183, 2014.
- [8] CHAVES, M. A. et al. Structural characterization of multilamellar liposomes coencapsulating curcumin and vitamin D3. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Amsterdam, v. 549, p. 112–121, 2018.
- [9] ZHAO, Y., SEDIGHI, R., WANG, P., CHEN, H., ZHU, Y; SANG, S. Carnosic acid as a major bioactive component in rosemary extract ameliorates high-fat-diet-induced obesity and metabolic syndrome in mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 63, n. 19, p. 4843-4852, 2015.
- [10] HUDIYANTI, D.; FAWRIN, H.; SIAHAAN, P. Simultant encapsulation of vitamin C and beta-carotene in sesame (*Sesamum indicum* L.) liposomes. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, v. 349, 2018. In *The 12th Joint Conference on Chemistry*.
- [11] TAKAHASHI, M. KITAMOTO, D.; IMURA, T.; OKU, H.; TAKARA, K.; WADA, K. Characterization and Bioavailability of Liposomes Containing a Ukon Extract. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 72, p. 1199-1205, 2008.
- [12] ISAILOVIĆ, B. D. et al. Resveratrol loaded liposomes produced by different techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Amsterdam, v. 19, p. 181–189, jul. 2013.
- [13] GORTZI, O. et al. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European Food Research and Technology*, Berlin, v. 226, n. 3, p. 583–590, 2008.
- [14] YOSHIDAM P.A.; YOKOTA, D.; FOGGIO, M.A.; RODRIGUES, R.A.F.; PINHO, S. Liposomes incorporating essential oil of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Characterization of aqueous dispersions and lyophilized formulations. *Journal of Microencapsulation*, 27(5): 416-25, 2010.



Referências



- [16] DONG, J.J.; YE, J.H.; LU, J.; ZHENG, Z.Q.; LIANG, Y.R. Isolation of antioxidant catechins from green tea and its decaffeination. *Food and Bioprocess Technology*, 89 (1): 62-66, 2011.
- [17] SEBAALY, C.; GREIGE-GERGES, H.; AGUSTI, G.; FESSI, H.; CHARCOSSET, C. Large-scale preparation of clove essential oil and eugenol-loaded liposomes using a membrane contactor and a pilot plant. *Journal of Liposome Research*, 23(2), 2015.
- [18] DE PAZ, E.; MARTÍN, Á.; COCERO, M. J. Production of water-soluble β -carotene formulations by high pressure processes. III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids, n. 2008, p. 1–6, 2013.
- [19] MORAES, M.; CARVALHO, J.M.P.; SILVA, C.R.; CHO, S.; SOLA, M.R.; PINHO, S. Liposomes encapsulating β -carotene produced by the proliposomes method: Characterisation and shelf life of powders and phospholipid vesicles. *International Journal of Food Science & Technology*, 48 (2), 2013.
- [20] TONIAZZO, T.; BERBEL, I.F.; CHO, S.; FAVARO-TRINDADE, C.; MORAES, I.C.F.; PINHO, S. β -carotene-loaded liposome dispersions stabilized with xanthan and guar gums: Physico-chemical stability and feasibility of application in yogurt. *Food Science and Technology*, 59 (2): 1265-1273, 2014.
- [21] ZÖMPEL R.; LÓPEZ-RUBIO, A.; PINHO, S.; LAGARON, J.M.; TORRE, L.G. Hybrid Encapsulation Structures based on β -carotene-Loaded Nanoliposomes within Electrospun Fibers. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 134, 2015.
- [22] CARVALHO, C. A. DE et al. Consumo alimentar e adequação nutricional em crianças brasileiras: revisão sistemática. *Revista Paulista de Pediatria*, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 211–221, 2015.
- [23] MICHELON, M.; MANTOVANI, R.A.; SINIGAGLIA-COIMBRA, R.; TORRE, L.G.; CUNHA, R. Structural characterization of β -carotene-incorporated nanovesicles produced with non-purified phospholipids. *Food Research International*, 79, 2015.
- [24] GIBIS, M.; ZEEB, B.; WEISS, J. Formation, characterization, and stability of encapsulated hibiscus extract in multilayered liposomes. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 38, p. 28–39, jul. 2014.
- [25] TONIAZZO, T.; PERES, M.S.; RAMOS, A.; PINHO, S. Encapsulation of quercetin in liposomes by ethanol injection and physicochemical characterization of dispersions and lyophilized vesicles. *Food Bioscience*, 19, 2017.
- [26] FRENZEL, M.; STEFFEN-HEINS, A. Impact of quercetin and fish oil encapsulation on bilayer membrane and oxidation stability of liposomes. *Food Chemistry*, London, v. 185, p. 48–57, out. 2015.
- [27] GHORBANZADE, T. et al. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chemistry*, London, v. 216, p. 146–152, fev. 2017.
- [28] SEBAALY, C.; JRAIJ, A.; FESSI, H.; CHARCOSSET, C.; GREIGE-GERGES, H. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes, *Food Chemistry*, 178, 2015.

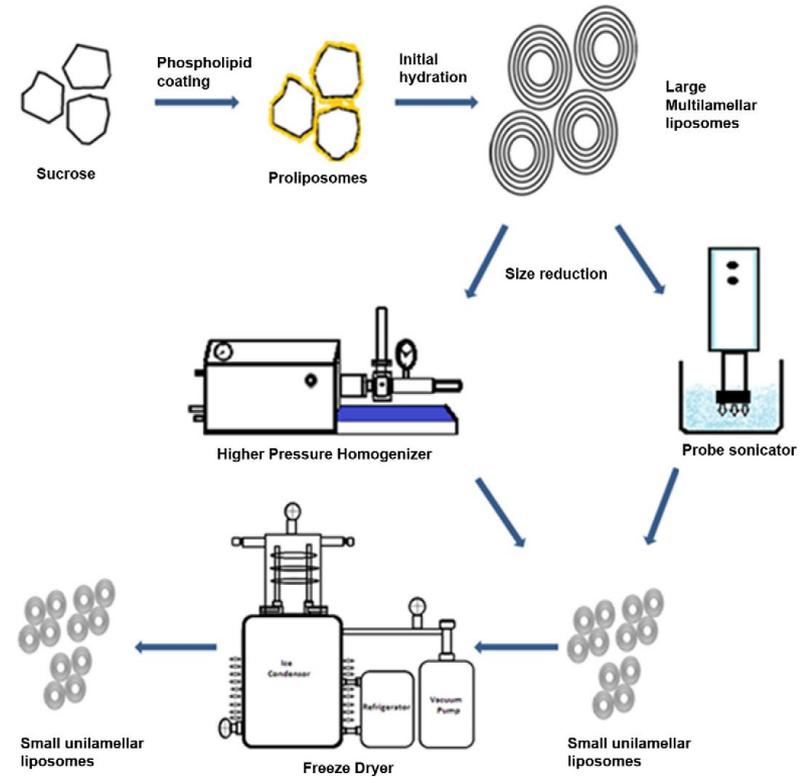


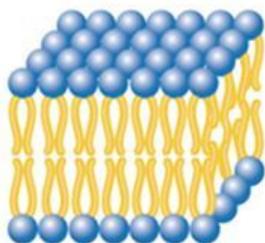
Fig. 1. Summary of method of production of liposome using the proliposomes technology.



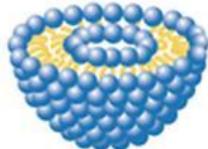
Parte polar
(hydrophilic)

Cauda hidrofóbica
(hydrophobic)

Lipídio



Bicamada Lipídica



Lipossoma

Fosfolipideos

ícleo
ofilico

Membrana
Lipídica

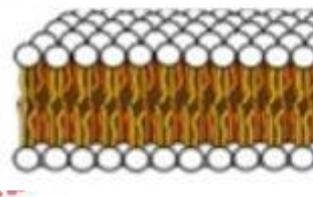
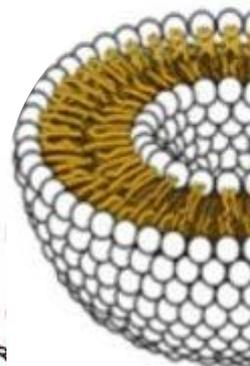
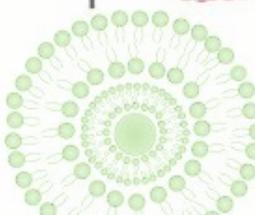
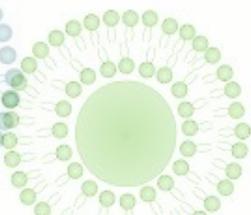
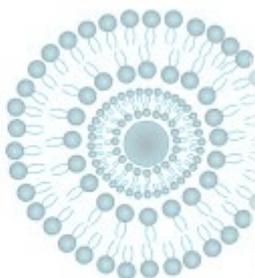
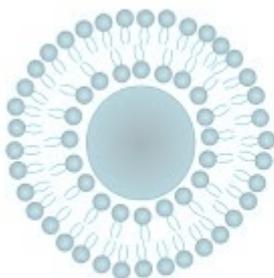
2

1

4

Lipossomos
unilamelar

Lipossomos
multilamelar



Métodos de preparação

Método de secagem por spray.: Em primeiro lugar, a preparação de dispersões líquidas lipídios puros ou lipídios e transportadores em mistura orgânica. Ao utilizar um bico de pulverização, as dispersões são atomizadas na célula de secagem e dessecadas em um fluxo de ar simultâneo que é então reunido em um tanque

Método de leite fluidizado.: O material transportador é então pulverizado com a solução ativo e fosfolipidio em solvente orgânico através do bocal e, aplicando vácuo ao mesmo tempo, o solvente orgânico de leite fluido é removido.



Introdução



Lipossoma

Estruturas esféricas unilamelares ou multilamelares compostas por bicamadas de fosfolípidios

Apresentam liberação controlada e aumento da solubilidade, mas têm tendência a se agregar ou se fundir. Suscetíveis à hidrólise ou oxidação

Prolipossoma

Formas sólidas compostas de carreador poroso solúvel em água, fosfolípidios e ativos dissolvidos em solvente orgânico

Material granular de fluxo livre, com liberação controlada, melhor estabilidade, facilidade de manuseio e maior solubilidade

Métodos de preparação

Método antissolvente supercrítico.: Solventes que são completamente miscíveis com CO₂ devem ser usados para dissolver os medicamentos. Para ambas as preparações, fosfolípidos, colesterol e fármaco foram dissolvidos em solventes orgânicos seguidos de sonicação até que uma solução límpida e homogênea fosse obtida. Assim, o soluto irá se dissolver no solvente orgânico para atingir a supersaturação em um período muito curto de tempo cerca de 30 minutos e tudo isso por causa da solubilidade do soluto no solvente orgânico diminuir suavemente, assim os PLs são precipitados no vaso.