

G8 – Camila, Ellen, Flávia, Layara e Letícia.

Itens	Nota obtida/(nota total)
Resumo	1,5/(1,5)
Introdução	1,5/(1,5)
Materiais e métodos	1,5/(1,5)
Resultados e discussão	1,8/(2,0)
Conclusão	1,0/(1,0)
Potencial da nanoestrutura	1,0/(1,0)
Referências	0,4/(0,5)
Adequação a formatação	0,5/(0,5)
Total	9,2

O título do projeto poderia ser melhor formulado. Como se trata do uso para tratamento da menopausa para mulheres cis e terapia hormonal para mulheres trans, algo relacionado ao uso proposto poderia ser abordado no título. Além disso, como traz a palavra “nanoencapsulada” geralmente pode ser redundante dizer que é para a liberação controlada do fármaco. Além disso, é uma formulação transdérmica, algo que poderia também aparecer no título.

Sugestão: Desenvolvimento de formulações transdérmicas contendo nanocápsulas com estradiol para a utilização em terapias hormonais femininas.

Resultados e discussão: as nanoestruturas não precisam apresentar exatamente 115 nm como foi possível no artigo usado como referência. O certo é saber mais ou menos com quantos nm a nanopartícula permeia pela pele e é absorvida pela corrente sanguínea, lembrando que também a rigidez/flexibilidade e outros parâmetros também vão influenciar no processo, não apenas o tamanho.

Foi obtido o PdI de 0,2 o que é muito bom, esse resultado deveria ter sido discutido com uma perspectiva mais positiva.

Universidade de São Paulo – USP
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO



FARMACOTÉCNICA E TECNOLOGIA DE COSMÉTICOS V

PROJETO

Desenvolvimento de uma formulação de estradiol nanoencapsulada com policaprolactona para controle da liberação do fármaco

Turma B

Camila Namie Takahashi (11882972)

Ellen Tardelli Falleiros Lima (12429960)

Flávia Penteado Chaguri (9862332)

Layara da Rocha Silva (11846985)

Leticia Maria Ribeiro Bassi (11274511)

Ribeirão Preto

2023

1. Resumo

Com o advento da tecnologia, a ciência tem descoberto novas técnicas que abrangem materiais em escalas ínfimas, como a nanotecnologia. Esse feito marca uma revolução na medicina, pois com dimensões próximas à escala molecular, essas partículas apresentam propriedades singulares que facilitam a aplicação terapêutica (GÜVEN, 2021). Dentre os tipos de materiais, temos as nanopartículas poliméricas, as quais abrangem as nanoesferas e as nanocápsulas, sendo que as nanocápsulas possuem características vantajosas na aplicação de fármacos lipossolúveis (SOPPIMATH, 2001).

A nanocápsula é uma nanopartícula polimérica que possui propriedades de biodegradabilidade, biocompatibilidade e simples produção, além de apresentar um núcleo lipídico, no qual fármacos lipofílicos podem ser encapsulados com uma maior eficiência (SOPPIMATH, 2001), quando comparado a nanoesfera. Visto isso, o objetivo deste trabalho consiste na formulação do estradiol com policaprolactona para controle da liberação do fármaco.

O estradiol é um hormônio que é responsável pelas características femininas e controla a deposição de cálcio nos ossos. O estradiol de fontes exógenas é comumente utilizado por mulheres em fase de menopausa (entre 40 e 60 anos) (FERREIRA,2013), e por transexuais que se encontram em fase de transição de gênero (LEINUNG,2018). Frequentemente ingerido, possui meia vida de 12 horas (O'CONNELL, 1995), sendo necessária a reaplicação e exposição a variações abruptas na concentração no indivíduo. Posto isto, a modificação da formulação na qual o fármaco atual é apresentado para uma de nanocápsula visa aumentar a biodisponibilidade do estrógeno e estender o seu tempo de efeito do medicamento e manter a concentração no organismo em níveis adequados por um maior período.

Desta forma, foram realizadas as modificações mencionadas, e os fatores que influenciam a composição das nanocápsulas foram avaliadas, como o potencial zeta, índice de polidispersão e tamanho hidrodinâmico, a fim de comparar duas formulações e os diferentes tipos de modificações realizadas, com as devidas discussões das mudanças.

2. Introdução

O estradiol, também chamado de “hormônio feminino”, é um importante esteróide responsável pelas características sexuais femininas e, também, um importante regulador endócrino, participando do crescimento, do metabolismo e da reprodução. O estradiol é uma forma específica de estrogênio e esse, por sua vez, é o termo geral usado para se referir a um grupo de hormônios sexuais esteróides (WAIFALKAR *et al.*, 2022).

A menopausa ocorre entre os 45 e 55 anos, representando o encerramento do último ciclo menstrual. Neste estágio ou próximo a ele ocorrem irregularidades menstruais e a diminuição dos níveis de estrogênio, devido a redução do número de folículos ovarianos (TEPPER *et al.*, 2012). Devido a redução dos níveis de certos hormônios, são recomendados algumas terapias de reposição hormonal (TRH) para minimizar os sintomas (ondas de calor, secura vaginal e alterações de humor) desse processo e evitar outros problemas, como a osteoporose (Levin *et al.*, 2018), amplamente observado em mulheres nesse processo.

O 17-beta-estradiol é um estrogênio, hormônio lipofílico do grupo dos esteróides. Apresenta ponto de fusão na faixa de 173 a 179°C e tem resistência a ação de enzimas do trato gastrointestinal e ao pH do estômago, o que permite e facilita que esse fármaco seja administrado por via oral (Pillat; Moreira, 2007). O 17-beta-estradiol é o estradiol mais presente na mulher em estágio reprodutivo e um dos mais utilizados na terapia de reposição hormonal (YAKABE *et al.*, 2005). Além disso, este hormônio é utilizado clinicamente, recomendado por ginecologistas e endocrinologistas, em combinação com outros hormônios como terapia hormonal para indivíduos em processo de transição de gênero (HAUPT *et al.*, 2020). Neste último caso, o uso de estrogênios pode estar associado antiandrógenos (também conhecidos como antagonistas de andrógenos ou bloqueadores de testosterona) para promover a diminuição dos pêlos corporais e faciais, diminuição da massa muscular, crescimento dos seios e redistribuição da gordura, colaborando assim para as mudanças físicas e mentais de uma pessoa com disforia de gênero (Tangpricha *et al.*, 2017). Esse hormônio é utilizado também para o tratamento de atrofia vulvar e vaginal na menopausa, hipoestrogenismo, prevenção da osteoporose pós-menopausa, tratamento do câncer de mama e carcinoma avançado da próstata dependente de andrógeno.

Dentre as terapias disponíveis e que são recomendadas por profissionais da saúde, temos a reposição por via oral dos hormônios estrogênio, estrogênio combinado com progesterona, por via local o estrogênio vaginal, gel e adesivo transdérmico (YAKABE *et al.*,

2005). A meia vida desse hormônio é cerca de 12-14 horas e a metabolização ocorre pelo fígado e intestino. Sabendo disso, a administração do hormônio precisa ser feita novamente em um curto espaço de tempo (dependendo da prescrição médica), o que pode causar desconforto à rotina dos indivíduos que fazem o uso deste, dificultando a adesão ao tratamento.

Quando administrado por via oral, nas suas formulações de uso mais comuns - comprimido e cápsula -, o 17-beta-estradiol está sujeito ao metabolismo de primeira passagem promovido por hepatócitos, que através de uma série de modificações estruturais na molécula, pode ser transformado em hormônios com ação menos potentes, como estrona e estriol, ou, ainda, em produtos sem atividade hormonal relevante (Pillat; Moreira, 2007).

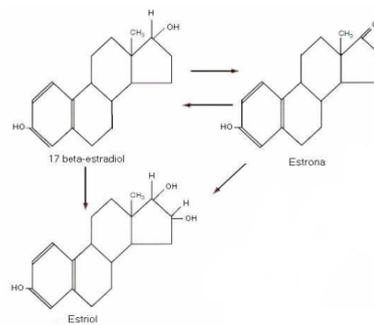


Figura 1: hormônios esteroidais produtos do metabolismo hepático do 17-beta-estradiol
Fonte: Adaptado de Pillat e Moreira (2007)

O objetivo deste projeto é explorar o uso de nanopartículas para desenvolver uma formulação de aplicação tópica que seja capaz de promover uma liberação controlada do estradiol, de forma a melhorar a sua biodisponibilidade, mantendo a concentração plasmática ideal do hormônio por um maior período de tempo, diminuindo assim a necessidade de reaplicações e variações abruptas na concentração deste hormônio no organismo da paciente - devido a seu tempo de meia-vida no organismo - de forma a melhorar a adesão ao tratamento quando em uso contínuo do estradiol. Assim, a nanotecnologia pode entrar no campo farmacológico, melhorando o tratamento dos usuários.

Dando enfoque em uma das partículas nanopoliméricas desenvolvidas dentro dessa ciência, as nanocápsulas possuem núcleo lipídico revestido com uma matriz polimérica e estabilizado por um tensoativo. Por possuírem núcleo lipídico, os fármacos que possuem características lipofílicas podem solubilizar com facilidade, o qual agrega a formulação a característica de melhorar a biodisponibilidade e a solubilidade de fármacos lipofílicos no

organismo (VENTURINI, *et al.*, 2011). Assim, o 17- β -estradiol pode ser beneficiado dentro dessa estrutura polimérica, por apresentar alta lipofilicidade, sendo que, neste caso, o núcleo é composto pelo óleo de coco, um óleo composto por uma mistura de ácidos graxos de cadeia saturada, como o ácido láurico, presente em maiores concentrações. Além disso, esse óleo é bem aceito pelos consumidores, sendo considerado um alimento funcional (A.M.Marina, 2009). Ademais, esse núcleo se apresenta envolto por uma matriz polimérica, que ajuda na estabilização do núcleo lipídico, com a função de proteger de degradações e controlar a liberação do medicamento (SOPPIMATH,2001). Porém é válido ressaltar que a escolha do material deve ser condizente com a via de administração desejada. No caso da nossa formulação, desenvolvida para administração por via tópica, fez-se uso do policaprolactona (PCL), um composto biodegradável (MOHAMED,2015). Por fim, para manter a estabilidade das nanopartículas, como a agregação, foram utilizados o Tween 80 e o Spam 80, tensoativos não iônicos.



Figura 2: Representação em 3D de uma nanocápsula

Fonte: O Globo

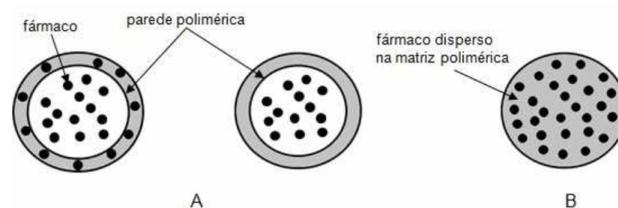


Figura 3: Representação esquemática da estrutura de uma micro ou nanocápsula (A) e de uma micro ou nanoesfera (B). É válido ressaltar que a estrutura de uma nanocápsula apresenta benefícios comparados ao

modelo presente no mercado atual. (adaptado de DASH & CUDWORTH, 1998)

Além da composição que uma nanocápsula pode apresentar, uma parte importante no desenvolvimento é o método de produção. Nós temos dois tipos de procedimentos: a emulsificação seguida da evaporação do solvente e a nanoprecipitação. Ao comparar essas

duas técnicas, a nanoprecipitação foi a que mostrou-se mais específica, pois ela se enquadra para fármacos lipofílicos, não utiliza altas quantidades de tensoativos e emprega solventes orgânicos com menor toxicidade. Visto que o processo de nanoprecipitação pode resultar em partículas maiores que o esperado, optou-se por um método semelhante: o gotejamento. A formação da gota durante os procedimentos de microencapsulação é responsável por definir o tamanho e a distribuição de tamanhos das nanocápsulas geradas (DALMORO,2012).

3. Materiais e equipamentos utilizados:

Materiais

- Balança analítica
- Béquer 10 ml
- Béquer 50mL
- Bastão de vidro
- Barquinha ou papel manteiga
- Erlenmeyer
- Bureta
- Agitador magnético com aquecimento
- Sonicador

Reagentes:

- **Policaprolactona (PCL)**
- Ativo: 17- β -estradiol
- Acetona (Solvente orgânico)
- Tween 80 (Agente emulsificante)
- Span 80 (Agente emulsificante)
- Água destilada
- Óleo de coco

4. Procedimentos e métodos:

O método escolhido para obtenção das nanocápsulas de estradiol foi por gotejamento. Nesse caso, utilizamos a polimerização *in situ* de monômeros dispersos, ou seja, por meio de

um gotejamento lento da fase orgânica em uma fase aquosa, seguida de uma agitação mais intensa. Assim, ocorre a rápida difusão do solvente e diminuição da tensão superficial, resultando na formação de uma suspensão coloidal de nanocápsulas.

Para obtenção da fase orgânica 100 mg de PCL deve ser dissolvido em 30 mL de acetona contendo Span® 80 (0,4235 g), 17- β -estradiol (50 mg) e 0,57 g de óleo de coco sob agitação constante durante 10 minutos. Para a preparação da fase aquosa é necessária a adição de 0,4235 g de Tween 80 e 53 mL de água em agitação constante por 10 minutos.

Na temperatura de 40°C e sob agitação magnética a fase orgânica deve ser adicionada lentamente à fase aquosa. Essa nanoemulsão deve ser mantida em agitação por 10 minutos, seguido da remoção do solvente orgânico por evaporação sob pressão reduzida, ainda a 40°C, obtendo amostra concentrada.

5.1 Fase orgânica:

- 100 mg de PCL
- 30 mL de acetona
- 0,4235 g de Span 80
- 50 mg de 17- β -estradiol
- 0,57 g de óleo de coco - fonte de triglicerídeos de cadeia média
- Dissolver o PCL, o estradiol na acetona com Span 80 e óleo de coco em sonicador
- Manter em agitação magnética constante por 10 minutos

Observação: PCL não é bem solubilizado na acetona e, portanto, há a necessidade de usar um tensoativo que permita/facilite essa solubilização.

5.2 Fase aquosa:

- 0,4235 g Tween 80
- 53 mL de água destilada
- Manter em agitação por 10 minutos

5.3 Gotejamento:

- Manter a fase orgânica em um erlenmeyer e a fase aquosa em outro

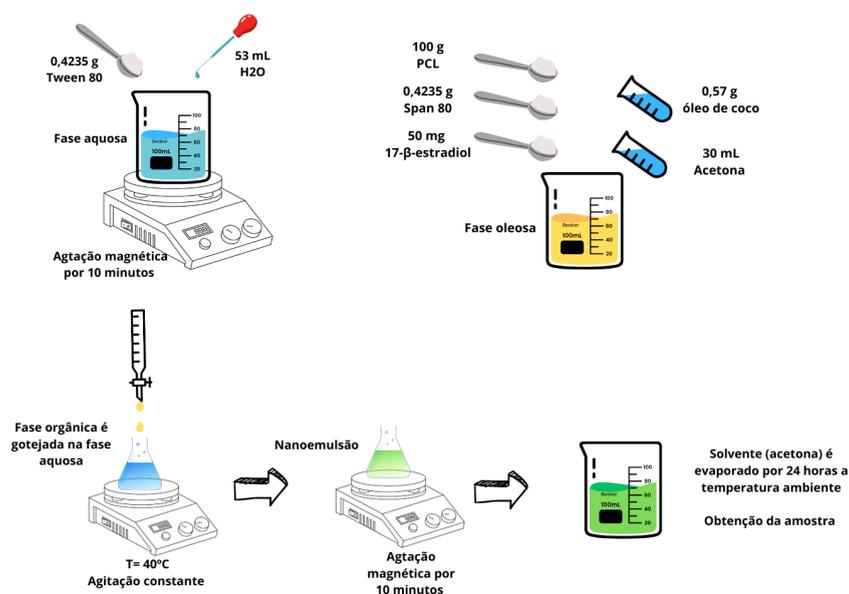
- Iniciar o processo de gotejamento da fase orgânica, com pipeta de pasteur, no erlenmeyer da fase aquosa, agitando vigorosamente a fase aquosa e mantendo a solução a 40°C
- Agitar a nanoemulsão formada por 10 minutos

5.4 Remoção do solvente:

- Em temperatura ambiente por 24 horas.

5.5 Purificação:

- Centrifugação da amostra com objetivo de separar as nanocápsulas da solução não encapsulada.



Resultados e discussão

As nanopartículas obtidas com o primeiro experimento apresentaram tamanho de partícula médio de 312,5 nm com índice de polidispersão de 0,2 apresentando dois picos, um com tamanho de 318,1 nm que corresponde a 96,4% das partículas, e outro pico com 5191 nm que corresponde a 2,6% das partículas presentes na amostra. Entretanto, o tamanho de partícula não é adequado para garantir uma permeação tópica, que deve apresentar 115 nm (BERRI, 2021).

A presença de dois picos resultante de duas populações de nanopartículas com tamanhos diferentes pode ter ocorrido devido à alta concentração de tensoativo adicionado à formulação, levando a agregação e conseqüentemente ao aumento do tamanho da partícula. As nanocápsulas apresentaram estabilidade eletroestérica esperada, com potencial zeta de -8 mV conferido pelos tensoativos poliméricos adicionados, tween 80 e span 80.

Para melhorar o tamanho das nanocápsulas poliméricas foi proposta uma nova formulação mantendo a quantidade total de tensoativos, mas igualando as proporções entre tween 80 e span 80. Dessa forma cada tensoativo passa a contribuir com a massa de 0,425g para a fase aquosa e para a fase oleosa.

As novas nanocápsulas apresentaram tamanho de partícula um pouco menores, com 251 nm, mas com índice de polidispersão de 0,141 e apresentando apenas um pico, indicando uma única população de tamanho de partículas, o que confere maior qualidade à formulação.

O valor de potencial zeta obtido na segunda formulação possui valor médio de 0,097 mV, apresenta um pico alto em +75mV (11,2% área) e um pico mais largo ao redor de +35 mV (10,6% área). Entretanto, na curva há uma alta quantidade de ruídos, que assim como o valor de 11 para attenuator, valor acima do esperado para a leitura, o que indica que a concentração da amostra lida não está de acordo com o método, o que provavelmente interferiu na medida do potencial zeta. Dessa forma, seria necessária uma nova bateria de testes com amostras menos concentradas para comprovar esse valor.

Conclusão:

Portanto foi possível criar uma nanocápsula com óleo de coco que poderia encapsular o ativo estradiol. O tamanho de partícula está próximo do adequado sendo necessário avaliação da permeação da barreira cutânea de forma experimental para que esse dado seja comprovado. As nanocápsulas são estabilizadas pelo efeito eletro estérico provocado pelos tensoativos poliméricos.

Referências:

A.M. Marina, Y.B. Che Man, I. Amin, **Virgin coconut oil: emerging functional food oil**, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 20, Issue 10, 2009, Pages 481-487, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.06.003>.

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224409002052>)

BERRI, Dalton. **Avaliação do papel do estrogênio tópico administrado por duas diferentes fórmulas na consolidação de fraturas de ratas osteoporóticas**. 2021. 38 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2021. Disponível em: <http://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/3527>. Acesso em: 17 set. 2023.

CRISTINA G. Venturini, Eliézer Jäger, Catiúscia P. Oliveira, Andressa Bernardi, Ana M.O. Battastini, Silvia S. Guterres, Adriana R. Pohlmann. **Formulation of lipid core nanocapsules, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**.v. 375, Issues 1–3, 2011, Pages 200-208, ISSN 0927-7757, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.12.011>.

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775710007429>)

DALMORO, A. et al. **Intensifying the microencapsulation process: Ultrasonic atomization as an innovative approach**. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, [Amsterdam], v. 80, n. 3, p. 471–477, Apr. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641112000070>.

Ferreira, V. N., Chinelato, R. S. D. C., Castro, M. R., & Ferreira, M. E. C. (2013). **Menopausa: marco biopsicossocial do envelhecimento feminino**. *Psicologia & Sociedade* 25, 410-419. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/psoc/a/Wb8Js5hSLSnXVJ4LkqBCvLt/?format=pdf>

Güven E. **Nanotechnology-based drug delivery systems in orthopedics**. *Jt Dis Relat Surg*. 2021;32(1):267-273. doi: 10.5606/ehc.2021.80360. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33463450; PMCID: PMC8073448.

HAUPT, Claudia *et al*. Antiandrogen or estradiol treatment or both during hormone therapy in transitioning transgender women. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [S.L.], v. 2020, n. 11, p. 1465-1858, 28 nov. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd013138.pub2>

Levin VA, Jiang X, Kagan R. Estrogen therapy for osteoporosis in the modern era. *Osteoporos Int*. 2018 May;29(5):1049-1055. doi: 10.1007/s00198-018-4414-z. Epub 2018 Mar 8. PMID: 29520604.

Matthew C. Leinung, Paul J. Feustel e Jalaja Joseph. **Tratamento hormonal de mulheres trans com estradiol oral**. *Saúde Transgênero*. Dezembro de 2018.74-81.<http://doi.org/10.1089/trgh.2017.0035>

MOHAMED, R.M., Yusoh, K., 2015. **A Review on the Recent Research of Polycaprolactone (PCL)**. *AMR* 1134, 249–255. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1134.249>

National Center for Biotechnology Information. "**PubChem Compound Summary for CID 5757, Estradiol**" *PubChem*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Estradiol>. Acessado 30 Novembro de 2023.

O'Connell MB: Variação farmacocinética e farmacológica entre diferentes produtos de estrogênio. *J Clin Pharmacol*. Setembro de 1995;35(9S):18S-24S. doi: 10.1002/j.1552-4604.1995.tb04143.x. (ID PubMed 8530713)

PILLAT, Micheli Mainardi; MOREIRA, Angélica Cristiane. Determinação do teor de 17 beta-estradiol e acetato de noretisterona por meio do teste de dissolução em medicamentos manipulados e industrializados usados na terapia hormonal no climatério. *Revista Contexto e Saúde, Ijuí*, v. 12, n. 6, p. 17-25, jan. 2007.

Tangpricha V, den Heijer M. Oestrogen and anti-androgen therapy for transgender women. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017 Apr;5(4):291-300. doi: 10.1016/S2213-8587(16)30319-9. Epub 2016 Dec 2. PMID: 27916515; PMCID: PMC5366074.

TEPPER, Ping G. *et al.* Trajectory Clustering of Estradiol and Follicle-Stimulating Hormone during the Menopausal Transition among Women in the Study of Women's Health across the Nation (SWAN). **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 97, n. 8, p. 2872-2880, ago. 2012. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2012-1422>

Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. **Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices.** *J Control Release.* 2001 Jan 29;70(1-2):1-20. doi: 10.1016/s0168-3659(00)00339-4. PMID: 11166403.

WAIFALKAR, P. P. *et al.* Role of Estradiol Hormone in Human Life and Electrochemical Aptasensing of 17 β -Estradiol: a review. **Biosensors**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 1117, 2 dez. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/bios12121117>

YAKABE, Clarice *et al.* Determinação do 17beta-estradiol nas formas farmacêuticas gel e adesivo transdérmico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 359-364, set. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322005000300009>.