

## Encapsulação de peróxido de cálcio em lipossomas

## Encapsulation of calcium peroxide in liposomes

### RESUMO

**Pedro Henrique Garcia de Lima**  
[pedrohenriquegarcia@alunos.utfpr.edu.br](mailto:pedrohenriquegarcia@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil.

**Luís Fernando Cabeça**  
[luiscabeca@utfpr.edu.br](mailto:luiscabeca@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Renato Marcio Ribeiro Viana**  
[renatoviana@utfpr.edu.br](mailto:renatoviana@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

**Alexei Lorenzetti Novaes Pinheiro**  
[alexeilnp@utfpr.edu.br](mailto:alexeilnp@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

O presente estudo visa a formação de vesículas lipossomais, contendo peróxido de cálcio, com o intuito de produzir sistemas transportadores de fármacos, para enfermidades epiteliais que possam surgir após tratamentos de radioterapia, devido a sua má troca de oxigênio com o meio. O peróxido de cálcio deve ser estudado para investigar sua capacidade de gerar oxigênio e também sua interação com peroxidases, buscando aumentar a produção de oxigênio total. Algumas formulações de lipossomas possuem a capacidade de permear pelas camadas do tecido epitelial, podendo ser uma alternativa para a produção dessas vesículas. Ensaio de voltametria cíclica e cronoamperometria foram utilizados para mensurar as alíquotas geradas de oxigênio tanto no fármaco livre, quanto no encapsulado e também observar seus respectivos comportamentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sistema de entrega de drogas. Vesículas lipossomais. Química supramolecular.

### ABSTRACT

The present study aims at the formation of liposomal vesicles, containing calcium peroxide, in order to produce drug transport systems, for epithelial diseases that may arise after radiotherapy treatments, due to their poor oxygen exchange with the medium. Calcium peroxide must be studied to investigate its ability to generate oxygen and also its interaction with peroxidases, seeking to increase the total oxygen production. Some liposome formulations have the ability to permeate through the layers of epithelial tissue and can be an alternative for the production of these vesicles. Tests of cyclic voltammetry and chronoamperometry were used to measure the aliquots generated of oxygen in both free and encapsulated drugs and also observe their respective behaviors.

**KEYWORDS:** Drugs delivery system. Liposomal vesicles. Supramolecular chemistry.

**Recebido:** 19 ago. 2020.

**Aprovado:** 01 out. 2020.

**Direito autorial:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



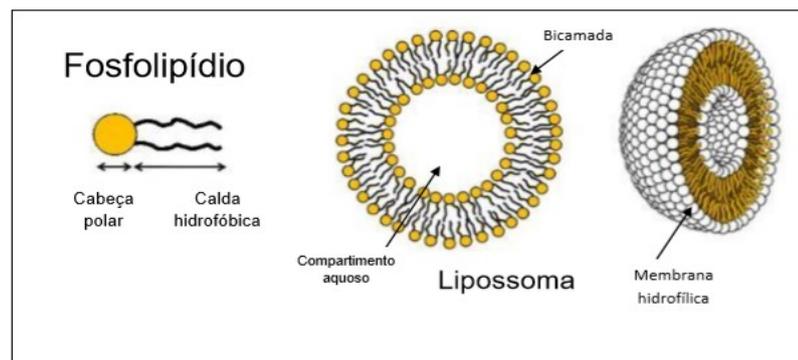
Insira aqui o selo referente ao Objetivo do Desenvolvimento Sustentável que o trabalho atende direta ou indiretamente.

Insira aqui o selo referente ao Objetivo do Desenvolvimento Sustentável que o trabalho atende direta ou indiretamente.

## INTRODUÇÃO

A química supramolecular trata de entidades organizadas de alta complexibilidade resultantes de duas ou mais espécies químicas unidas por forças intermoleculares, a auto-organização dessas moléculas dá acesso a materiais supramoleculares avançados, tais como polímeros, cristais líquidos e lipossomas. Lipossomas pode ser utilizado para realizar o transporte mássico de fármacos, fornecendo uma aproximação real a nanociência e a nanotecnologia. Sistemas de transporte e liberação controlada (Drugs delivery system) utilizando lipossomas (Figura 1) como carreador mostram grandes vantagens quando comparadas aos sistemas convencionais, pois permitem aprimorar a liberação do fármaco até o seu local de ação, gerando uma melhor eficácia terapêutica, redução da toxicidade e maior tempo do fármaco na circulação, menor número de doses, resultando em uma maior segurança na administração e também maior estabilidade do fármaco. Podendo incorporar tanto substâncias hidrofílicas (nos compartimentos aquosos) como lipofílicas (dentro das camadas lipídicas) (FELICE et al., 2014).

Figura 1. Representação esquemática da organização de um lipossoma unilamelar.



Fonte: Adaptada de Zeineldin e Skandani (2012).

O uso de sistemas transportadores lipossomais podem apresentar uma alternativa para o tratamento de lesões cutâneas decorrentes do tratamento de radioterapia em pacientes de câncer. Com o grande aumento dos números de casos de câncer, pessoas tem que passar por diversos tipos de tratamentos como a quimioterapia ou a radioterapia. Esta última traz consequências graves para o tecido epitelial no local do tratamento, com possível necrose em função da baixa oxigenação do tecido. Para tentar solucionar esse problema são utilizados tratamento em câmaras hiperbáricas, como meio de forçar a oxigenação. Entretanto, esse tipo de tratamento é muito custoso e invasivo (SALA, 2018).

Para que um ativo livre exerça seu efeito na pele, é necessário que sua molécula ultrapasse a barreira do estrato córneo, primeira camada de pele e atinja seu local de ação. O peróxido de cálcio foi utilizado como molécula com o intuito de tratar enfermidades que necessitam de oxigênio, pois em algumas enfermidades a pele perde a capacidade de trocar oxigênio com o ambiente. Peróxido de cálcio ( $\text{CaO}_2$ ) em contato com a água libera uma quantidade relativa de oxigênio.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo encapsular o composto peróxido de cálcio em lipossomas e averiguar a possibilidade de usar o mesmo como fármaco liberador de oxigênio.

## MATERIAIS E MÉTODOS

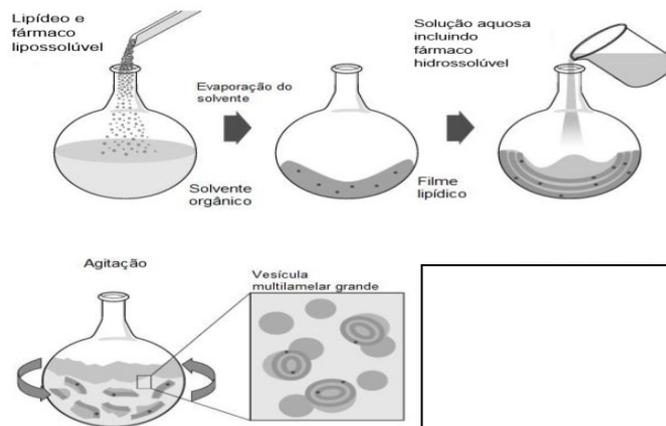
### PREPARO DOS LIPOSSOMAS COM $\text{CaO}_2$

O método utilizado para a preparação do lipossoma foi por filme lipídico (HAERI et al., 2013). Foi utilizado os seguintes componentes: fosfatidilcolina de soja (SPC) e colesterol (7:3) para realizar a formação do lipossoma. Alíquotas SPC e colesterol (1 mM) e  $\text{CaO}_2$  (56 mg) foram misturadas. Após a evaporação do clorofórmio, um filme lipídico foi produzido. O filme foi hidratado com solução aquosa. O complexo lipossomas/  $\text{CaO}_2$  foi congelado e levado para liofilização. A Figura 2 mostra o esquema de preparo dos lipossomas carreando o  $\text{CaO}_2$ .

As possíveis reações do peróxido de cálcio ( $\text{CaO}_2$ ) com água.



Figura 2. Possibilidade de preparação de lipossomas pela hidratação de filme lipídico.



Fonte: Adaptada de Lasic (1997)

### TESTE DE VOLTAMETRIA.

A voltametria cíclica foi a técnica utilizada para observação da concentração de oxigênio liberada. Foram realizados testes com  $\text{CaO}_2$  livre, complexo armazenado na geladeira e complexo liofilizado. A voltametria foi realizada utilizando célula de platina, eletrodo de trabalho, sistema fechado purgado com gás nitrogênio.

Para acompanhar a liberação de oxigênio a partir da formulação lipossomal/ $\text{CaO}_2$  testes de voltametria cíclica foram feitos com controle de temperatura por banho maria em 37 °C. Foi utilizado agitador magnético

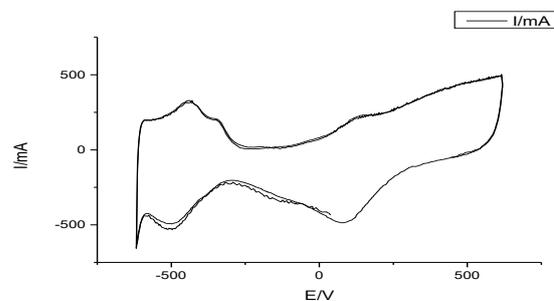
mantendo a mesma em rotação. Em conjunto com a voltametria cíclica foi utilizado a cronoamperometria, que analisa a corrente gerada pelo tempo.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

$\text{CaO}_2$  em água libera  $\text{O}_2$  como já demonstrado pela equação química. Um teste simples foi realizado colocando  $\text{CaO}_2$  em solução aquosa em um béquer. A solução turva não apresentou liberação imediata do gás nos primeiros 20 minutos. Somente tempo superior a 2h foi observado bolhas na parede do béquer. Esse teste simples deu indícios que a encapsulação do peróxido de cálcio em lipossomas poderia oferecer uma formulação controlada de liberação de oxigênio.

O primeiro teste de voltametria cíclica realizada foi com peróxido de cálcio para definir uma faixa de amperagem para a corrente em que se dá o ensaio, sendo uma faixa de 500 mA a -500 mA como mostra na Figura 3.

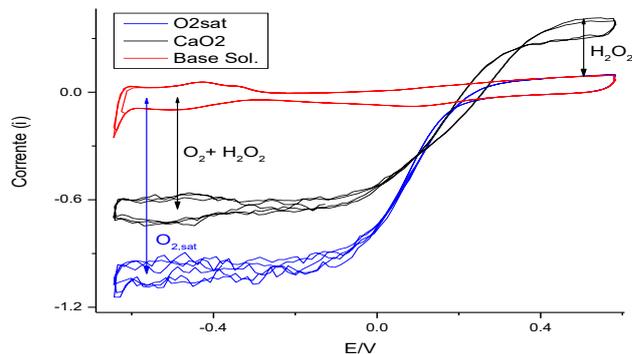
Figura 3. Voltametria cíclica do  $\text{CaO}_2$ .



Fonte: A autoria própria (2020)

Após isso, foi feito o ensaio com o peróxido de cálcio livre e a curva obtida na voltametria cíclica é dada pela Figura 4. Inicialmente a solução tampão contida na célula voltamétrica foi desoxigenada pelo borbulhamento de gás nitrogênio decorrido por uma hora, para garantir a total retirada de qualquer vestígio de oxigênio, obtendo assim a curva padrão de cor vermelha (Figura 4). Em seguida, foi realizado o borbulhamento de oxigênio até saturar a solução tampão, obtendo a curva padrão de saturação de oxigênio de cor azul. A solução foi saturada novamente com o nitrogênio com o intuito de retornar a curva para seu estado sem oxigênio. O ensaio com o composto livre de  $\text{CaO}_2$  deu origem a curva preta, a qual alcançou a corrente mínima de -0,7mA.

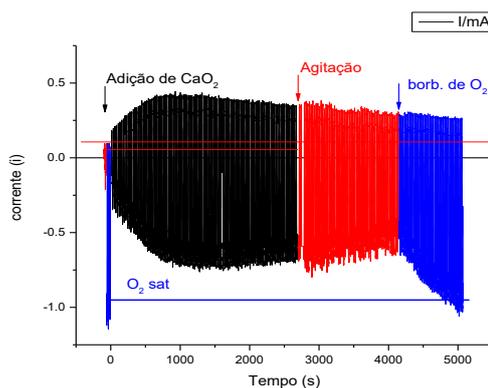
Figura 4. Curvas obtidas por voltametria cíclica, a vermelha contendo somente solução tampão saturada de nitrogênio, a azul corresponde a solução tampão saturada de oxigênio e a preta corresponde ao que ocorre com a solução saturada de hidrogênio após ser colocado o peróxido de cálcio livre.



Fonte: Autoria Própria (2020)

A Figura 5, contempla uma curva gerada pela cronoamperometria após a adição de  $\text{CaO}_2$  livre. Observa-se na primeira parte da curva em preto que após adição de  $\text{CaO}_2$  houve a produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a qual corresponde a região positiva da curva. Também houve a produção de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  correspondente à região negativa da curva (parte em preto). Na região vermelha da curva, a agitação foi aumentada em busca de solubilizar grânulos sólidos acumulados ao fundo da célula e com isso aumentar a produção dos produtos, mas pouco se notou. A região em azul representa o instante em que se iniciou um borbulhamento de oxigênio dentro da célula, para verificar se o tampão estivesse estourado. Foi adicionada ao sistema a curva obtida em condições de saturação de oxigênio pelo borbulhamento na solução, obtida antes da introdução de peróxido de cálcio livre, fazendo a purga da célula com nitrogênio posteriormente, com o intuito de conhecer o limite de saturação da solução (curva azul).

Figura 5. Cronoamperometria do  $\text{CaO}_2$ , tendo como base a solução tampão saturada com oxigênio.

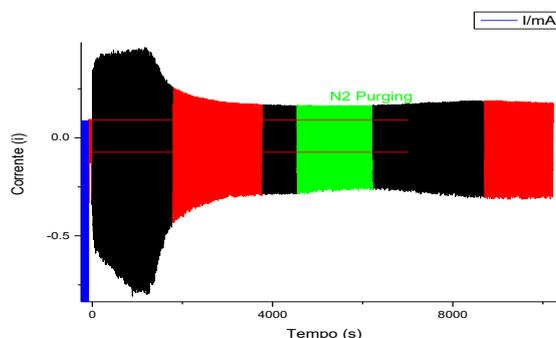


Fonte: Autoria Própria (2020)

Abaixo na Figura 6, tem o ensaio de cronoamperometria feita com o sistema lipossomas/peróxido de cálcio. As zonas de cor preta referem-se a períodos que a agitação se manteve, e as zonas vermelhas representam períodos em que se desligou a agitação. Inicialmente vê-se uma grande quantidade de decomposição do peróxido de cálcio em seus produtos. Essa parte corresponde a decomposição do  $\text{CaO}_2$  livre e do encapsulado nos lipossomas (nos primeiros 1200 segundos). Tendo em vista que houve uma diminuição acentuada de produção de oxigênio a

partir de 1200 s, a qual se manteve constante após um determinado período de tempo, foi realizado a purga da célula com gás nitrogênio durante a zona verde. Observou-se que não apresentou um aumento na produção de oxigênio.

Figura 6. Cronoamperometria do sistema lipossomas/ $\text{CaO}_2$



Fonte: Autoria Própria (2020)

## CONCLUSÃO

Dentre os resultados obtidos foi observado que o  $\text{CaO}_2$  livre não chegou na saturação de  $\text{O}_2$  da solução (Figura 5), podendo levantar a hipótese que a decomposição do peróxido de cálcio em oxigênio pode ser lenta ao ponto de entrar em equilíbrio com a exaustão, não sendo possível alcançar a saturação da solução mesmo com o aparecimento de bolhas.

Nota-se que durante o ensaio do sistema lipossomas/peróxido de cálcio (Figura 6) houve uma grande decomposição inicial, e que pode ser atribuída ao peróxido de cálcio em sua forma livre, o qual não foi encapsulado. Após certo tempo houve estabilização na decomposição do peróxido de cálcio em  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$ , ficando fora do limite de saturação de  $\text{O}_2$  da solução tampão.

Como a decomposição do peróxido é lenta, o limite de saturação de  $\text{O}_2$  na solução tampão não pode ser observado por conta de ser um longo tempo de ensaio, dificultando a possibilidade do uso das técnicas de cronoamperometria e voltametria cíclica.

O uso de peroxidases pode contribuir para buscar o limite de saturação de oxigênio, decompondo  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Levando a uma alternativa para o uso deste fármaco nesta aplicação.

Esta pesquisa foi interrompida pela pandemia do COVID-19. Sendo necessário ainda outros testes com variação de quantidades de massa de  $\text{CaO}_2$  e também mensurar precisamente a quantidade de oxigênio produzida.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço todos os técnicos do LabMulti, laboratório multiusuário da UTFPR de Londrina; Ao Prof. Dr. Alexei Lorenzetti Novaes Pinheiro e ao Prof. Dr. Renato Marcio Ribeiro Viana e em especial a UTFPR Câmpus Londrina pelo apoio ao projeto destaque.

## REFERÊNCIAS

FELICE, B.; PRABAKARAN, M.P.; RODRÍGUEZ, A.P.; RAMAKRISHNA, S. **Drug delivery vehicles on a nano-engineering perspective. Materials Science and Engineering C**, 33, 588-595, 2014.

LASIC, D. D. **Os lipossomas em 'Gene Delivery'**. CRC PressLLC, 1997.

SALA, M., R. DIABB, A. ELAISSARIA, H. FESSI - **Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: Properties, mechanisms of skin interactions and medical applications**. International Journal of Pharmaceutics 535 (2018) 10-17.

SKANDANI A. A.; AL-HAIK M. **Effect of chirality and length on the penetrability of single-walled carbon nanotubes into lipid bilayer cell membranes**. Langmuir, v. 28, n. 20, p.7872-7879, 2012.

ZEINELDIN, R.; SKANDANI A. A.; AL-HAIK M. **Effect of chirality and length on the penetrability of single-walled carbon nanotubes into lipid bilayer cell membranes**. Langmuir, v. 28, n. 20, p.7872-7879, 2012.