DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONSTITUÍDAS DE ÁCIDO OLEICO E ACIDO LINOLEICO PARA O TRATAMENTO DE PARASITOSES

Ricardo Rodrigues (BIC-PROVIC), Priscileila Colerato Ferrari(Orientadora), e-mail: priscileila@hotmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas

Área: Farmácia. Sub-área: Farmacotecnia.

Palavras-chave: esquistossomose, estrongiloidose, Eudragit L, sistemas de liberação controlada de fármacos.

Resumo

O acido oleico tem demonstrado atividade antiparasitária ao impedir a penetração de cercarias de esquistossomose e estrongiloidose no ser humano, duas doenças negligenciadas e que afetam milhares de pessoas em todo mundo. Neste trabalho o acido oleico foi incorporado em micropartículas de Eudragit L, pela técnica de emulsificação e evaporação de solventes e analisadas quanto ao seu tamanho de partículas, índice de polidispersão, espectro na região do Infravermelho e por MEV-FEG. Diferentes solventes e suas combinações foram avaliadas para a dispersão do polímero e duas proporções do Eudragit L também foram avaliadas. Os resultados mostraram que a combinação de metanol e diclorometano (1:1) foi o melhor sistema solvente. Após a padronização do solvente os tamanhos das partículas variaram de 327 a 392 nm, com índice de polidispersão inferior a 0,5 indicando homogeneidade de tamanho. As micropartículas se apresentaram esféricas, sem porosidades e não houve indícios de interação química entre os componentes das formulações. Dessa forma, são sistemas promissores para o carreamento de acido oleico com potencial aplicação farmacêutica.

Introdução

A esquistossomose e a estrongiloidose são doenças que afetam milhares de pessoas e que possui uma alta morbidade com quadro clínico que piora progressivamente (KATZ; PEIXOTO, 2000). As doenças afetam principalmente trabalhadores rurais, crianças, pescadores e populações em geral que vivem nas proximidades de reservatórios de água como lagoas e barragens. Estima-se que 207 milhões de pessoas estejam infectadas pelo esquistossomo em todo o mundo, com cerca de 280 mil mortes por ano em países africanos (KING, 2010).

Estudos recentes tem demonstrado a atividade do ácido oleico contra a penetração do parasita na fase de cercaria e também pela inibição de algumas enzimas presentes nas cercarias e vermes adultos, responsáveis pelo desenvolvimento do parasita (RESSUREIÇÃO et al., 2015, LEE et al., 2013). A hipótese levantada sobre a atividade dos óleos está relacionada com a observação da morte do verme pela destruição do tegumento (resultados não publicados).

Os sistemas de liberação controlada de fármacos como as micropartículas, têm sido desenvolvidos por, entre outras razões, possibilitar o direcionamento do fármaco encapsulado para o alvo da ação, protegendo o fármaco de ações químicas, além

de mucoadesão, reprodutibilidade e fracionamento das doses, melhorando a biodisponibilidade e consequentemente melhorando a adesão ao tratamento. (SEVERINO et al., 2011). Dessa forma, o objetivo do presente projeto foi o desenvolvimento e a caracterização de micropartículas poliméricas contendo acido oleico, visando o direcionamento do fármaco ao habitat dos vermes no corpo humano após administração oral.

Materiais e Métodos

As micropartículas contendo acido oleico, foram obtidas pela técnica de emulsificação e evaporação do solvente. Inicialmente, preparou-se uma fase orgânica, constituída por dois solventes orgânicos, metanol e diclorometano ou acetona (1:1) no qual foi dissolvido o polímero entérico Eudragit L-100 (0,1 g e 0,05 g) e o ácido Oleico (0,05 g). Preparou-se também uma fase aquosa constituída por uma solução de álcool polivinilico (PVA) a 2,5 %. Submeteu-se a emulsificação, por agitação da fase orgânica na qual foi vertida a fase aquosa, a 800 rpm mantendo agitação durante 4 horas para a evaporação do solvente. As partículas foram levadas a ultracentrifugação à 8000 rpm por 10 minutos, para a precipitação das micropartículas e lavadas com agua deionizada. Este processo foi repetido por 3 vezes, e as partículas foram secas em estufa a 37°C.
As micropartículas foram caracterizadas por espectroscopia de correlação de fótons para avaliar tamanho de partículas e índice de polidispersão, em triplicata as amostras foram diluídas em água destilada na proporção 1:10. Por microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (MEV-FEG) as micropartículas foram fixadas em suporte metálico e secas em estufa a 37°C. Em seguida, as amostras foram metalizadas com ouro por um minuto e levadas ao MEV-FEG, com voltagens de aceleração de 10 e 15 kV e observadas em diferentes aumentos. Para análise das micropartículas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) as foram secas em estufa a 37°C e misturadas em KBr para formação de pastilhas e analisados em comprimento de onda de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans/min.

Resultados e Discussão

Para a obtenção das micropartículas diversos solventes foram avaliados, entre eles diclorometano, acetona e metanol. Foi verificado que o Eudragit L não era solúvel no diclorometano e na acetona puros, dessa forma apenas o metanol conseguiu solubilizar totalmente o polímero. Diante disso foram testadas formulações com a mistura em proporções igualitárias (1:1) de metanol com diclorometano e de metanol com acetona, para que fossem obtidas partículas de tamanho adequado, homogêneas; devido ao sistema solvente mais polar. A Tabela 1 apresenta os tamanhos de partículas obtidos para a preparação de micropartículas.

Tabela 1 – Tamanho de partículas e índice de polidispersão das micropartículas obtidas.

Amostra	*Índice de Polidispersão*	*Tamanho de partículas (nm)*
MP_EUD0.1MD	0,259	466.3

MP_EUD0.1MA	0,538	940.0
MP_EUD0.05	0,424 ± 0,11	327 ± 20,66
MP_EUD0.1	0,478 ± 0,31	392 ± 25,45

MD: mistura metanol e diclorometano; MA: mistura metanol e acetona.

As amostras preparadas com os solventes metanol e diclorometano apresentaram os menores tamanhos de partícula e também o menor índice de polidispersão, sendo escolhido para preparar micropartículas com diferentes concentrações do polímero. Este índice está relacionado com a homogeneidade no tamanho das partículas. Em uma escala de 0 a 1, valores próximos a 1 indicam heterogeneidade enquanto valores menores indicam sistemas mais homogêneos. Os resultados mostraram micropartículas com tamanho médio variando entre 327 e 392 nm com índice de polidispersão menor que 0,5. Esse tamanho é adequado para o carreamento de fármacos e as partículas apresentam-se homogêneas quanto ao tamanho com pequenas variações.

A análise através de MEV-FEG foi realizada com aumento de 30.000 vezes (Fig. 1) e as partículas se apresentaram esféricas e regulares, condizente com os resultados obtidos na caracterização. Entretanto, notou-se que a formulação MP_EUD0.1, que contem a maior quantidade do polímero, apresentou partículas mais regulares e esféricas comparada com a micropartícula MP_EUD0.05, produzida com menos Eudragit L.

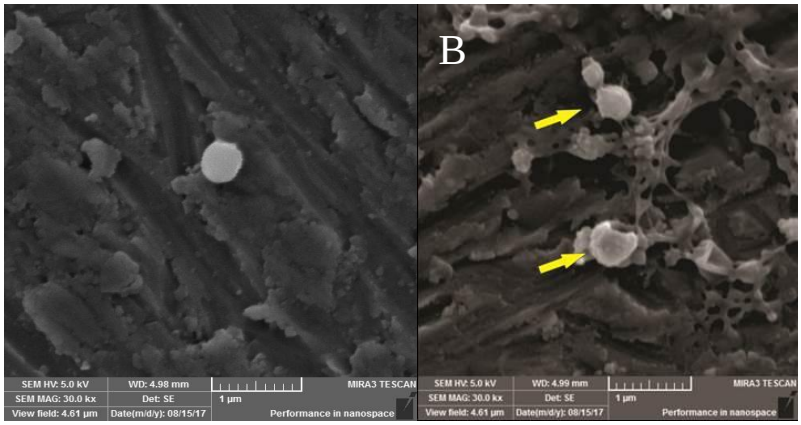


Figura 1 - Fotomicrografias das formulações MP_EUD0.1 (A) e MP_EUD 0.05 (B) em aumento de 30.000 vezes.

A espectroscopia na região do infravermelho foi realizada para o estudo dos grupos funcionais presentes nas micropartículas, conforme demonstrado na Figura 2. Para o Eudragit L pode ser visto as bandas de vibração em 3520 cm^{-1} atribuída à forma livre de acido carboxílico, banda de absorção larga associada a grupos OH entre 2500-3900 cm^{-1}, entre 2900-3000 cm^{-1} vibrações associadas ao grupo CH do dímero de éster carboxílico, 1730 cm^{-1} vibração de ligação dupla carbono-oxigênio, 1195 cm^{-1} e 1160 cm^{-1} de ligação C-O de éster carboxílico e ácido carboxílico, respectivamente. As bandas características do acido oleico são em 3004 cm^{-1} referente à ligação O-H e indica a presença da dupla ligação presente na cadeia graxa, as bandas de absorção em 2924 e 2853 cm^{-1} são característicos das ligações CH_2 e em 1713 cm^{-1} é característica do grupo carboxílico.

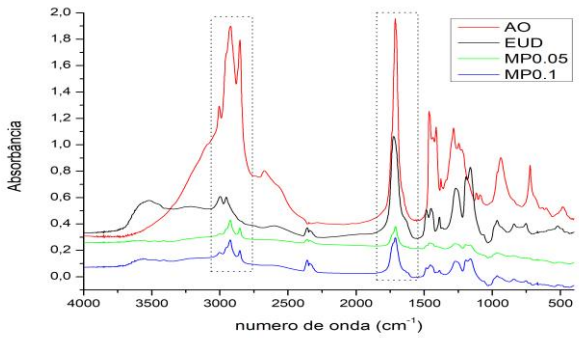


Figura 2 – Espectro na região do infravermelho das micropartículas, do acido oleico (AO) e Eudragit.

Pelo comparativo dos espectros das micropartículas com os espectros das substâncias puras Eudragit L e acido oleico, verificou-se que não ocorreram mudanças nos picos referentes ao polímero e ao acido graxo nas micropartículas, apenas a sobreposição dos picos, conforme destacado. Essa analise indica que não houve interação química entre os componentes da formulação.

Conclusões

Micropartículas poliméricas de Eudragit L com acido oleico foram satisfatoriamente obtidas com tamanho adequado, homogêneas, esféricas e não houve interação química entre os componentes da formulação. Micropartículas preparadas com metanol e diclorometano na fase orgânica e com maior quantidade do polímero apresentaram-se mais promissoras como sistema de liberação do acido oleico para potencial tratamento de parasitoses.

Agradecimentos

Agradeço ao C-Labmu pelas análises de caracterização realizadas.

Referências

KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 3, p. 303-308, 2000.

KING, C. H. **Parasites and poverty: the case of schistosomiasis**. Acta Tropica, v. 113, p. 95–104, 2010.

LEE, V.S.T., BURGESS. J.L., STERLING, C.R., LUTZ, E.A. **Schistosoma mansoni: Assessment of effects of oleic acid, cercarial age and water temperature on parasite-host attraction**. International Journal for Parasitology, v. 43, p.837–842, 2013.

RESSURREIÇÃO, M., et al. **Sensory Protein Kinase Signaling in Schistosoma mansoni Cercariae: Host Location and Invasion**. The Journal of Infectious Diseases**,** v. 212, p.1787–1797, 2015.