PERFIL DE DISSOLUÇÃO IN VITRO DE ÁCIDO OLEICO ENCAPSULADO EM NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS PARA O TRATAMENTO DE ESTRONGILOIDOSE

Renata Dalzotto Santos (PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Priscileila Colerato Ferrari (Orientador), e-mail: priscileila@hotmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Ciências Farmacêuticas

Farmácia, Farmacotecnia.

Palavras-chave: Nanopartículas de Eudragit®, ácido oleico, estrongiloidose, sistemas de liberação controlada.

Resumo

Infecções parasitárias como a estrongiloidose causada por parasitas intestinais traz grande impacto para sociedade e faz-se necessário o estudo de novas alternativas terapêuticas e efetivas. Nanoparticulas de Eudragit® contendo acido oleico foram obtidas e caracterizadas. Apresentaram tamanho médio variando de 93,70 a 151,9 nm; o índice de polidispersão menor que 0,3 e os resultados do potencial zeta variaram de -29,9 a -36,8 mV, indicando uma boa estabilidade das partículas. As nanopartículas preparadas com menor quantidade de polímero apresentaram maior eficiência de encapsulação (80,77 %) sendo selecionada para o estudo de dissolução do fármaco.

Introdução

Os parasitas intestinais como o *Strongyloides stercoralis*, causador da estrongiloidose, levam a quadros de diarreia crônica e desnutrição, comprometendo o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (Ludwing et al., 2005; Olsen et al., 2009).

Estratégias tecnológicas baseadas no desenvolvimento de sistemas nanoestruturados para liberação de fármacos, têm sido empregadas (Narvekar et al., 2012, Tamjidi et al., 2013, Tran et al., 2011).

Eudragit® é um polímero entérico que impede a liberação prematura de fármacos no estômago, permitindo sua liberação na região intestinal (Hao et al., 2013). Dessa forma, o objetivo do projeto foi a caracterização das nanopartículas poliméricas preparadas com Eudragit® contendo ácido oleico e desenvolvimento de método de quantificação do ácido oleico nas nanopartículas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para avaliação do perfil de dissolução in vitro do ácido oleico a partir dessas nanopartículas poliméricas, visando a liberação do fármaco diretamente no habitat do parasita.

Materiais e Métodos

Obtenção das nanopartículas

Foram obtidas através da técnica de nanoprecipitação, caracterizada pela preparação de uma fase orgânica, gotejada lentamente sob uma fase aquosa sob agitação magnética. A formulação está listada na **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição das formulações desenvolvidas.

Amostras	Fase Orgânica				Fase Aquosa	
	Eudragit® (g)	Ácido Oleico (g)	Span 80® (g)	Acetona (mL)	Tween 80® (g)	Água Destilada (mL)
NP_EUD0.05	0,05	0,1	0,077	27	0,077	53
NP_EUD0.05	0,05	-	0,077	27	0,077	53
NP_EUD0.1	0,1	0,1	0,077	27	0,077	53
NP_EUD0.1	0,1	-	0,077	27	0,077	53

Caracterização das nanopartículas
Tamanho de partícula e Potencial Zeta
As amostras foram diluídas na proporção 1:10 (v/v) em água destilada, e analisadas no equipamento de espectroscopia de correlação de fótons (Zetasizer Nano ZS90).

Microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (MEV-FEG)
Observou-se a morfologia das nanopartículas. As amostras diluídas em água destilada na proporção 1:100, foram fixadas em suporte metálico e secas em estufa a 37°C. Em seguida, metalizadas com ouro por um minuto e levadas ao microscópio eletrônico de varredura.

Desenvolvimento do método de quantificação do ácido oleico por CLAE.
O equipamento utilizado foi um cromatógrafo HPLC (modelo Nexera, Shimadzu). A fase estacionária usada foi uma coluna de fase reversa C18 e a fase móvel constituída de acetonitrila, metanol e hexano (90:08:02) acidificada com 0,2 % de ácido acético glacial. O fluxo foi de 0,5 mL por minuto, volume de injeção de 5 µL, temperatura da coluna de 25 °C. O detector utilizado foi o espectro de ultravioleta em 208 nm. Uma curva de calibração foi obtida na faixa de 0,125 a 4,0 mg/mL (0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0) do ácido oleico em metanol em triplicata.

Estudo da eficiência de encapsulação do ácido oleico nas nanopartículas
As nanopartículas foram submetidas a liofilização. Amostras foram pesadas, em triplicata e metanol foi adicionado para dissolver o fármaco presente no exterior das nanopartículas. A suspensão ficou sob agitação magnética por 24 h e em seguida foram filtradas em membranas de 0,45 µm, diluídas e injetadas no cromatógrafo. A eficiência de encapsulação foi dada em % de fármaco encapsulado, conforme a Equação 1.

$$EE(\%) = \frac{Q_t - Q_q}{Q_t} \times 100$$ Equação 1

Onde Q_t é a quantidade total adicionada de ácido oleico e Q_q é a quantidade quantificada.
Ensaio de dissolução in vitro do ácido oleico a partir das nanopartículas
Foi preparado tampão fosfato pH 6,8 e adicionados os tensoativos Tween 80 e lauril sulfato de sódio variando as proporções em 0 a 2 %. Um estudo piloto foi realizado, adicionando 20 mL da suspensão de nanopartículas no saco de dialise de celulose (cut-off = 14.000) e mantidos sob agitação a 37 °C nos meios de dissolução estudados durante 4 horas.

Resultados e Discussão

As suspensões de nanopartículas foram levadas para rotaevaporação, com o objetivo de eliminação do solvente orgânico, na temperatura de 40° C. Os volumes obtidos variaram de 50 a 53 mL.

A espectroscopia de correlação de fótons é capaz de avaliar o tamanho de partícula através da determinação do raio hidrodinâmico das partículas em suspensão, o potencial zeta e a homogeneidade dos tamanhos das partículas. Os valores obtidos pela espectroscopia de correlação de fótons das nanopartículas estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados obtidos pela espectroscopia de correlação de fótons.

Amostras	Ácido Oleico (g)	Tamanho de Partícula (nm)	Índice de Polidispersão (PDI)	Potencial Zeta (mV)
NP_EUD0.05	0,1	139,0	0,230	-34,5
NP_EUD0.05	-	94,79	0,224	-29,9
NP_EUD0.1	0,1	151,9	0,256	-35,4
NP_EUD0.1	-	93,70	0,227	-36,8

O tamanho das nanopartículas variaram de 93,70 a 151,9. As menores partículas foram as que não continham fármaco. Demonstrando assim, que as partículas tem tamanhos adequados para utilização como carreador de fármaco. O índice de polidispersão (PDI), que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, foi baixo (< 0,3) para todas as dispersões obtidas, indicando a formação de sistemas monodispersos e uniformes (Nemen, Lemos-Senna; 2011).

As análises do potencial zeta indicaram a obtenção de partículas de carga negativa, de acordo com as características do polímero utilizado (Eudragit®), e representa também a carga de superfície da partícula. Os resultados obtidos variaram de -29,9 a -36,8 mV, indicando uma boa estabilidade das partículas.

O MEV-FEG é um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação e análise de características nanoestruturais de sólidos. As imagens obtidas estão representadas na Figura 1.

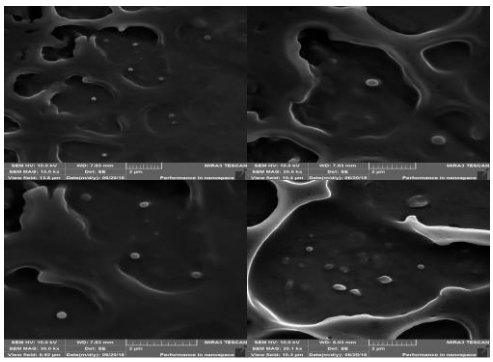


Figura 1. Imagens representativas das nanopartículas obtidas pelo MEV/FEG.

As características morfológicas das nanopartículas são condizentes.

A partir do método de quantificação do ácido oleico desenvolvido foi obtida a curva de calibração e a equação da reta: y = 3854161x – 142364, onde *y* é a absorbância e *x* a concentração do fármaco, com coeficiente de correlação r^2 = 0,9982.

O estudo de eficiência de encapsulação indicou que as nanopartículas preparadas com 0,05 g de Eudragit® apresentaram melhor encapsulação do fármaco. Os resultados obtidos foram de 66,12±1,94 % de ácido oleico na amostra NP_EUD0.1 e 80,77±1,96 % na amostra NP_EUD0.05. Dessa forma a amostra selecionada para os próximos estudos foi a nanopartícula codificada como NP_EUD0.05.

Conclusões

As nanopartículas constituídas de Eudragit contendo ácido oleico apresentaram tamanho adequado, homogêneas e estáveis. O método de quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência foi desenvolvido e capaz de quantificar o fármaco contido nas nanopartículas. Com os resultados obtidos concluímos que a amostra com menor quantidade de polímero é a mais adequada para os próximos estudos, por apresentar a maior eficiência de encapsulação do ácido oleico.

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora, Priscileila Colerato Ferrari, a Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao CLABMU e a Fundação Araucária pelo fomento concedido.

Referências

HAO, S., WANG, B., WANG, Y., ZHU, L., WANG B., GUO, T. Preparation of Eudragit L 100-55 enteric nanoparticles by a novel emulsion diffusion method. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.108. p.127-133, 2013.

LUDWING, K. M; FREI, F; ALVARES, F. F; PAES, J. T. R. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 32. n.5. Uberaba set/out. 1999.

NARVEKAR, M., XUE, H. Y. & WONG, H. L. A novel hybrid delivery system: Polymer-oil nanostructured carrier for controlled delivery of highly lipophilic drug all-trans-retinoic acid (ATRA). **International Journal of Pharmaceutics,** v. 436, p.721-731, 2012.

NEMEN, D.; LEMOS-SENNA, E. Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinado à adminitração cutânea. **Química Nova** (Impresso), v. 34, p. 408-413, 2011.

TAMJIDI, F., SHAHEDI, M., VARSHOSAZ, J. NASIRPOUR, A. NANOSTRUCTURED LIPID CARRIERS (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies,** v.19, p. 29–43, 2013.

OLSEN, A., VAN LIESHOUT, L., MARTI, H., POLDERMAN, T., POLMAN, K., STEINMANN, P., STOTHARD, R., THYBO, S., VERWEIJ, J., J., MAGNUSSEN, P. Strongyloidiasis-the most neglected of the neglected tropical diseases? **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.103, p. 967-972, 2009.

TRAN, V.-T., BENOÎT, J.-P., VENIER-JULIENNE, M., C. Why and how to prepare biodegradable, monodispersed, polymeric microparticles in the field of pharmacy? **International Journal of Pharmaceutics,** v. 407**,** p.1-11, 2011.