



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

ADRIENNE FRANCISCA JAEGER
PROF^a Dr^a SILVIA MARIA BATISTA DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS PARA
INCOPORAÇÃO DO FÁRMACO**

Assis - SP
2012



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

ADRIENNE FRANCISCA JAEGER

DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS PARA INCOPORAÇÃO DO FÁRMACO

Trabalho de apresentado ao
Programa Institucional de Bolsas de
Iniciação Científica (PIBIC) do
Instituto Municipal de Ensino
Superior de Assis – IMESA e a
Fundação Educacional do Município
de Assis – FEMA.
Orientanda: Adrienne Francisca
Jaeger.
Orientadora: Profª Drª Silvia Maria
Batista de Souza.
Linha de Pesquisa: Ciências Exatas
e da Terra.

**Assis
2012**

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|-----------|
| Figura 1 - Representação das Nanoesferas e das Nanocápsulas..... | 09 |
| Figura 2 - Representação das Nanoemulsões..... | 10 |
| Figura 3 - Representação do Lipossoma..... | 11 |
| Figura 4 – Molécula da Carboxmetilcelulose..... | 15 |
| Figura 5 – Mosquito palha, transmissor da Leishmaniose..... | 18 |
| Figura 6 – (A) LTA infiltração nasal; (B) LTA forma vegetante; (C) e (D) diagnóstico diferencial da LTA..... | 19 |
| Figura 7 – (A) LTA forma hiperkeratósica; (B) LTA forma difusa; (C) e (D) diagnóstico diferencial da LTA..... | 19 |
| Figura 8 – Estrutura química da Anfotericina B..... | 21 |
| Figura 9 – Ácido Esteárico..... | 24 |
| Figura 10 - Esquema do procedimento de produção das nanocápsulas..... | 27 |
| Figura 11 - Experimento de produção de nanocápsulas: (a) Mistura de fases com a anfotericina B.; (b) Mistura de fases na ausência de anfotericina B..... | 28 |
| Figura 11 - Experimento de produção de nanocápsulas: (c) Emulsão; (d) Nanocápsulas em suspensão; (e) Nanocápsulas centrifugadas..... | 29 |
| Figura 12 – Possíveis nanocápsulas observadas no microscópio óptico..... | 30 |
| Figura 13 - Possíveis nanocápsulas observadas no microscópio óptico..... | 31 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 05 |
| 2. NANOTECNOLOGIA..... | 07 |
| 2.1 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA..... | 08 |
| 3. NANOCÁPSULAS..... | 12 |
| 3.1. POLÍMEROS PARA OBTENÇÃO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO..... | 13 |
| 3.2. POLÍMERO BIODEGRADÁVEL..... | 13 |
| 3.2.1. Polímeros naturais..... | 14 |
| 3.2.1.1. Carboximetilcelulose..... | 14 |
| 3.2.2. Polímeros naturais modificados..... | 15 |
| 3.2.3. Polímeros sintéticos..... | 16 |
| 3.3. POLÍMERO NÃO BIODEGRADÁVEL..... | 16 |
| 3.4. MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE SISTEMAS DE NANOPARTÍCULA..... | 16 |
| 3.4.1 Método Mecânico..... | 16 |
| 3.4.2 Método Físico-Químico..... | 17 |
| 4. LEISHMANIOSE..... | 18 |
| 5. ANFOTERISINA B..... | 21 |
| 6. TENSOATIVO..... | 23 |
| 7. METODOLOGIA..... | 25 |
| 7.1. MATERIAIS E REAGENTES..... | 25 |
| 7.2. VIDRARIAS..... | 25 |
| 7.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL..... | 26 |
| 8. RESULTADO E DISCUSSÃO..... | 28 |
| 9. CONCLUSÃO..... | 32 |
| REFERÊNCIAS..... | 33 |

1. INTRODUÇÃO

Os avanços nas pesquisas na área de liberação controlada, refletem uma tendência tecnológica mundial, que pode ser traduzida em "quanto menor, melhor". Denomina-se esta revolução de nanotecnologia, cujo termo é originário de uma unidade de medida que equivale a 10^{-9} metros (um milionésimo de milímetro).

Os benefícios do desenvolvimento da nanotecnologia ocorrem em todas as áreas desde chips de computadores cada vez menores, até sistemas mais eficientes para veicular e aumentar a eficácia dos fármacos no organismo. Dentre os sistemas propostos, encontra-se uma nanoestrutura chamada nanocápsula, que é um sistema tecnológico disponível para incorporação de substâncias ativas (SCHAFFAZICK, et al., 2003).

Assim como as nanocápsulas, tem outros compartimentos que podem atuar como veículos de transporte de princípios ativos, como as nanoesferas e lipossomas. As nanoesferas diferem da nanocápsulas por não apresentar óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde o princípio ativo fica retido ou adsorvido. Já os lipossomos apresentam algumas desvantagens em relação aos outros veículos de transporte. Devido á sua constituição lipídica, os lipossomos liberam os princípios ativos existentes em seu interior já no primeiro contato realizado com o manto hidrolipídico, causando concentração pontual e não entregando seus princípios ativos no ponto ideal, além disso, sua composição favorece a oxidação, comprometendo a qualidade de seu conteúdo (PIMENTEL et al. 2007; PIATTI, 2011).

As nanocápsulas, que são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o princípio ativo estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parte polimérica (SCHAFFAZICK et al. 2003; NECKEL; SENNA, 2005).

Esse tipo de liberação controlada proporciona um modo diferente de carregar e distribuir as substâncias ativas, oferecendo a vantagens como: maior eficácia terapêutica, liberação progressiva e controlada do princípio ativo, proteger a substância ativa de possíveis degradações

por diminuir seu contato com o restante da formulação proporcionando um maior desempenho da substância, diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação de um fármaco (OLIVEIRA; LIMA, 2006).

A eficácia das nanocápsulas também pode ser demonstrada por meio de sua ampla utilização na medicina na fabricação de fármacos, como por exemplo, em tratamento de controle hormonal e em adesivos para controle de tabagismo, onde o ativo é nanoencapsulado (ALVES, 2011; PIATTI, 2011).

A leishmaniose é uma doença infecciosa zoonótica, amplamente distribuída em todo o mundo. Segundo a organização mundial de saúde 90% dos casos de leishmania visceral (a forma mais severa da doença) é registradas em Bangladesh, Nepal, Índia, Sudão e no Brasil. No Brasil encontram-se disseminada nas regiões nordeste, centro-oeste e sudeste (RATH, et al, 2003).

A droga de primeira escolha utilizada no tratamento da leishmaniose é o antimonial pentavalente, a Anfotericina B é a droga de segunda escolha, empregada quando não se obtém resposta ao tratamento com antimonial ou na impossibilidade de seu uso. A Anfotericina B é um fármaco potente utilizado no tratamento da Leishmaniose e apesar de sua eficácia seu uso é limitado devido às reações adversas que causa no organismo, tais como: náusea, febre, calafrios e intoxicação renal, pois apresenta alta toxicidade (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

Desta forma esse trabalho tem como objetivo principal a produção de nanocápsulas para a incorporação do fármaco anfotericina B, estudar o mecanismo de formação das nanocápsulas e a eficiência de incorporação do fármaco.

2. NANOTECNOLOGIA

A primeira vez que se ouviu falar em nanotecnologia foi em 1959, pelo físico Richard Feynman, que comentou a respeito do poder de manipulação de átomos e moléculas, que resultaria em componentes muito pequenos. A nanotecnologia nada mais é do que a técnica de fabricação de entidades que possuam dimensões menores do que 100 nanômetros. O nanômetro é a medida que corresponde à bilionésima parte do metro ou a milionésima parte do milímetro. O prefixo "nano" vem do grego e significa "anão" e corresponde à bilionésima parte de alguma grandeza. (MARTINELLO; AZEVEDO, 2009)

A nanotecnologia está presente em várias áreas, como cosmética, farmacêutica, medicina, eletrônica, ciência da computação, biologia e mecânica. A indústria projeta para 2015 um faturamento de cerca de um trilhão de Dolores em produtos de nanotecnologia em dimensões nanométricas. Os produtos que se destacam são: transistores de polímeros orgânicos emissores de luz, utilizados em monitores; produtos de limpeza baseada em nanoemulsões antibacterianas; nanocápsulas feitas de lipossomas ou polímeros; ferramentas nanofluídica utilizadas em chip; nanodispositivos utilizados na construção de máquinas minúsculas para procedimentos cirúrgicos; conversores catalíticos automotivos nanoincrementados, utilizados na combustão interna dos motores; nanotubos de carbono como fontes de elétrons para equipamentos de raios-X; nanocristais em blocos de construções para metais; produtos de consumo do cotidiano nanoincrementados, bolas de tênis, protetores solares, embalagens e automóveis (ALVES, 2011).

Na área de fármacos, ainda há poucos produtos no mercado, porém a mais trabalhos encontrados do que em cosméticos, entretanto, estes ainda são muito caros e pouco acessíveis. Esses novos sistemas de carregadores têm levado ao desenvolvimento de vários fármacos para tratamento de câncer, e outras doenças atualmente sem cura. A preparação de nanopartículas no encapsulamento de fármacos pode incluir algumas moléculas que possuem receptores específicos em células no fígado, cérebro, ou mesmo células cancerígenas, proporcionando uma liberação do medicamento em um alvo pré-definido (DURÁN; AZEVEDO, 2009).

No final de 2007, o Brasil contava com quase 50 empresas de diversos segmentos utilizando produtos ou processos nanotecnológicos. Entre 2001 e 2007, o governo brasileiro investiu cerca de R\$ 150 milhões no desenvolvimento das áreas de nanociência e nanotecnologia. É pouco, se comparado aos investimentos realizados por países desenvolvidos como os Estados Unidos e o Japão, que investem anualmente em torno de US\$ 1 bilhão com previsão de movimentações que ultrapassem um trilhão de dólares nos próximos dez anos (MARTINELLO; AZEVEDO, 2009).

Devido à reatividade das nanopartículas, seu uso indiscriminado pode levar a efeitos tóxicos inesperados. Diversos estudos comprovam que a inalação dessas partículas pode ser perigosa. No entanto existem inúmeros benefícios, tal como: partículas de óxido de zinco, por exemplo, não penetram o estrato córneo da epiderme (não ultrapassam a barreira da pele), não alcançam as camadas irrigadas da pele humana e, portanto, não são tóxicas (BOAVENTURA, 2010).

2.1 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

O termo nanopartícula é genérico, sendo utilizado de acordo com o tamanho da partícula. Partículas com tamanho menor que 1 μ m são consideradas nanopartículas, enquanto que as partículas maiores são denominadas micropartículas (AZEVEDO, 2002).

O termo nanopartícula aplicado à liberação controlada de substâncias é amplo e englobam algumas estruturas diferentes. Em todas elas, as moléculas da substância podem estar absorvidas, ou seja, fixadas na superfície, dispersas ou dissolvidas, diferem entre si pela composição da formulação. As principais estruturas aplicadas em fármacos ou cosméticos são: nanoesferas, nanocápsulas e nanoemulsões e lipossomas. (RAFFIN et al, 2003; OLIVEIRA et al, 2004).

Denominam-se nanoesferas (Figura 1) aqueles sistemas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso ou solubilizado no interior da matriz polimérica. Desta forma, obtém-se um sistema monolítico, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado. As nanocápsulas constituem os chamados sistemas do tipo reservatório, onde é possível identificar um núcleo diferenciado, que pode ser sólido ou líquido, neste caso a substância encontra-se

envolvida por uma membrana, geralmente polimérica, isolando o núcleo do meio externo (AZEVEDO, 2002).

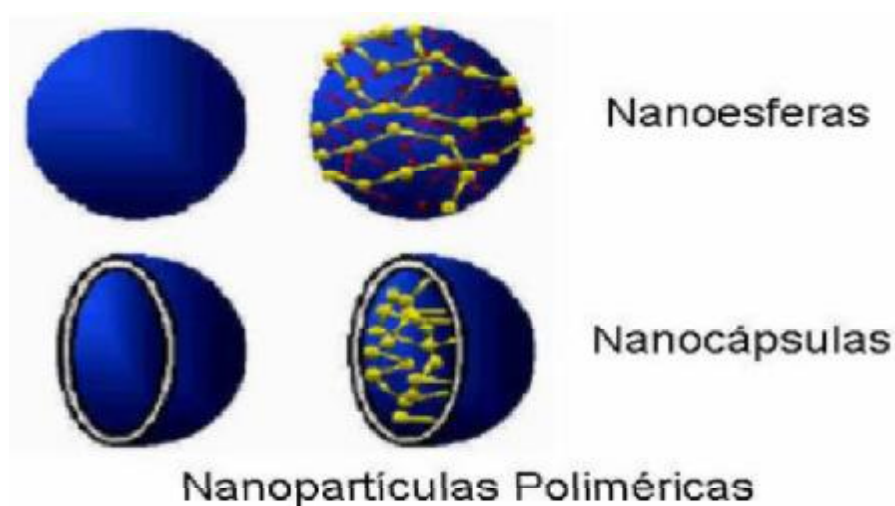


Figura 1 - Representação das Nanoesferas e das Nanocápsulas (In: AZEVEDO, 2002, p.4).

As nanoemulsões, tamanho entre 10 a 100 nm (Figura 2), correspondem a um sistema micelar, constituído pela dispersão de tensoativos (agente emulsificante) e óleo em água. O tensoativo é o intermediador do contato entre aqueles dois compostos. Geralmente, um intermediador deve ter afinidade com os dois lados. Deve reunir em si características presentes em ambos, mas as quais não são compartilhadas entre aqueles. O resultado da junção do emulsificante, da água e do óleo, em qualidades e quantidades específicas, é então a emulsão (MUEHLMANN, 2011). É uma nanocápsula sem revestimento polimérico. Assim, como os lipossomas podem apresentar em sua superfície moléculas que alteram suas propriedades (RAFFIN et al., 2003).

Na área estética, as características de transparência, fluidez, menor quantidade de tensoativos, bem como a ausência de espessantes, conferem às nanoemulsões ótimo aspecto estético e agradável sensorial à pele (MORALES, 2010).

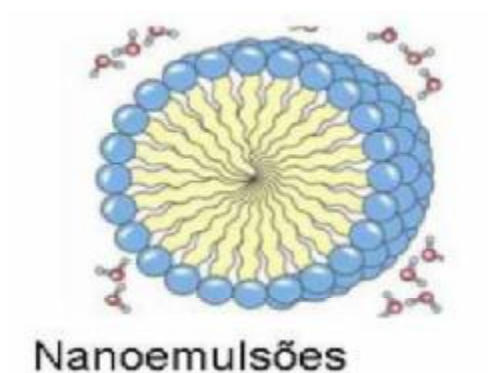


Figura 2 - Representação das Nanoemulsões (SANTOS, 2009).

Os lipossomas (Figura 3) são veículos aquosos formados por bicamadas (lamelas) concêntrica de fosfolipídios (lipídeos que contem ácido fosfórico na sua estrutura), que por sua vez, são moléculas presentes no organismo humano e com afinidade tanto por água quanto por óleos e gorduras (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007). Polímeros podem ser incorporados na sua superfície, para aumentar sua estabilidade e tempo de permanência no organismo. Pode-se ainda ligar à superfície de anticorpos, que atuam como agentes transportadores dos lipossomas para determinadas zonas no organismo.

É uma excelente forma de sistema de liberação controlada de fármacos devido sua flexibilidade estrutural como: tamanho, composição e fluidez da bicamada lipídica. Á grande capacidade de incorporar variedade de compostos hidrofílicos e hidrofóbicos, sendo utilizado em fármacos citotóxicos, genes e vacinas. O lipossoma varia de tamanho de 20nm até alguns micrometros (PIMENTEL et.al., 2007).

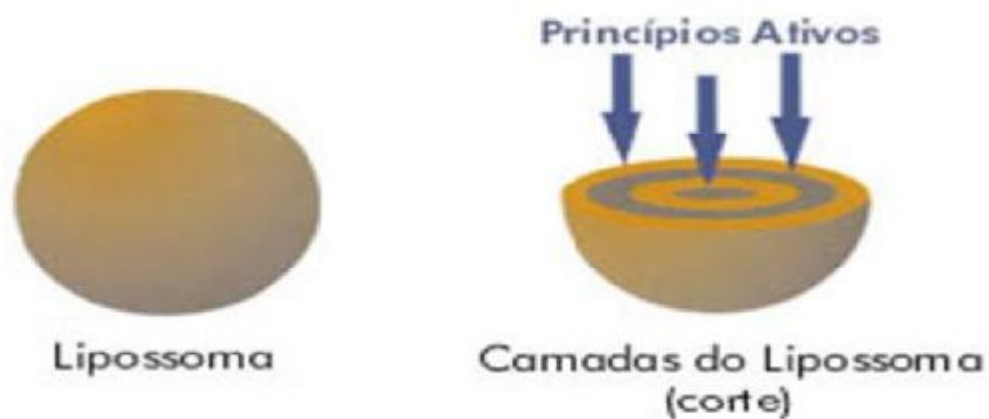


Figura 3 - Representação do Lipossoma (In: BIO-MÉDICIN, 2012).

Os lipossomas são atóxicos, biodegradáveis e podem ser preparados em grande quantidade. Finalmente, por se tratar de partículas minúsculas, pode ser administrada por via oral, intravenosa, ocular ou pulmonar, ou dérmica (ANTUNES, 2007).

3. NANOCÁPSULAS

O uso de nanocápsulas é aplicado especialmente para substâncias que degradam em temperaturas acima de 40°C ou são sensíveis à oxidação em presença de água, por variação de pH ou por efeito de luz ultravioleta (KÜLKAMP; GUTERRES; POHLMANN, 2009).

As nanocápsulas são sistemas coloidais vesiculares de tamanho nanométrico, caracterizando-se por apresentar um núcleo interno oco e oleoso, onde o princípio ativo deve se encontrar preferencialmente dissolvido, revestido por uma membrana polimérica com surfactantes lipofílico e/ou hidrofílico na interfase. Os óleos utilizados podem ser vegetais ou minerais, devendo apresentar ausência de toxicidade, não serem capazes de degradar ou solubilizar o polímero e alta capacidade de dissolver a droga em questão (PEREIRA, 2006).

As nanocápsulas destacam-se em relação aos sistemas matriciais pelo confinamento do princípio ativo na camada central das partículas, que confere uma maior proteção deste frente à degradação no meio biológico, permite a veiculação de moléculas hidrofóbicas, além de reduzir o efeito de liberação inicial. As características físico-químicas e a estabilidade das nanocápsulas são fortemente afetadas pelas propriedades físico-químicas dos polímeros e óleos empregados na sua preparação (NECKEL; SENNA, 2005).

As nanocápsulas, a estabilidade é maior, ou seja, no caso de um creme hidratante, por exemplo, a penetração será mais rápida e profunda na pele e os efeitos serão visíveis em muito menos tempo. A disponibilizar as cápsulas com os princípios ativos mais estáveis e com maior poder de permeação (BARBUGLI, 2012).

Segundo Azevedo (2002) os sistemas de liberação controlada oferecem numerosas vantagens utilizando nanocápsulas, segue abaixo as mais importantes:

- a) Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada da substância, a partir da degradação da matriz;
- b) Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de circulação;
- c) Não há predomínio de instabilidade e decomposição da substância;
- d) Administração segura, sem reações e menor número de doses;

e) Tanto substância lipofílicas como hidrofílicas podem ser incorporadas;

3.1. POLÍMEROS PARA OBTENÇÃO DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO

Os polímeros são macromoléculas compostas de moléculas pequenas ligadas umas as outras para formar estruturas lineares, ramificadas e/ou ligações cruzadas que podem formar partículas poliméricas capazes de conter substâncias no seu interior (PEREIRA, 2006).

Para utilização in vivo é desejável que os polímeros apresentem as seguintes características:

- 1- Química: polímero e substância encapsulada devem existir juntos sem que haja interação entre eles, para não comprometer a liberação do produto.
- 2- Mecânica: capacidade de o polímero ser moldado, deformado.
- 3- Biológica: deve ser biodegradável, seja por via enzimática, química ou microbiana.

A membrana polimérica presente nas nanocápsulas possui efeito protetor de substâncias, contra danos causados por agentes externos, prevenindo a sua degradação (KÜLKAMP; GUTERRES; POHLMANN, 2009).

Os polímeros são divididos em polímeros biodegradáveis e não biodegradáveis.

3.2. POLÍMERO BIODEGRADÁVEL

As nanopartículas, constituídas por polímeros biodegradáveis, tem atraído muita atenção dos pesquisadores em relação aos lipossomas, devido às suas potencialidades terapêuticas, à maior estabilidade nos fluidos biológicos e durante o armazenamento, preparação rápida e fácil, e ao baixo custo quando comparadas aos lipossomas (PEREIRA, 2006).

Polímeros biologicamente degradáveis incluem: polímeros naturais, polímeros naturais modificados e polímeros sintéticos.

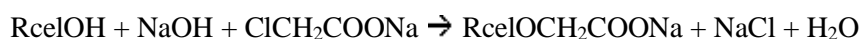
3.2.1. Polímeros naturais

São sempre biodegradáveis, por exemplo, o colágeno, a celulose (como a carboximetilcelulose) e a quitosana (AZEVEDO, 2002).

3.2.1.1. Carboximetilcelulose

A Carboximetilcelulose ou CMC é um polímero aniônico obtido através da reação da celulose com monocloroacetato de sódio e hidróxido de sódio (conforme a reação a baixo), o CMC de grau técnico apresenta-se na forma de pó ou grânulos levemente amarelecidos (creme), com menor grau de pureza (tendo como impurezas os sais de formação); muito solúvel em água, tanto a frio quanto a quente, na qual forma tanto soluções propriamente ditas quanto géis (KÄISTNER, 1996).

A reação de formação da carboximetilcelulose:



A CMC tem grande aplicação tecnológica, sendo utilizada em várias indústrias, tais como, couro, detergente, tintas, cimento, fibras têxteis, petroquímica, excelente propriedade para aplicações em farmacologia onde é usada no processo de encapsulação, aumentando o tempo de desintegração de cápsulas e comprimidos, conseqüentemente retardando um pouco a absorção do fármaco, em cosméticos como agente emulsificante e como aditivo alimentar de ser fisiologicamente inerte (USSUY, 2002).

A estrutura da CMC é baseada no polímero de β -(1,4)-D-glucopiranosose da celulose (Figura 4).

A presença de substituintes com grupos $-\text{CH}_2\text{-COOH}$ na cadeia e celulose produz um afastamento das cadeias poliméricas e permite uma maior penetração de água, conferindo a CMC solubilidade em água a frio (ROHR, 2007). Por ser solúvel em água e o grau de dispersão neste solvente varia com o grau de substituição (número médio de hidroxilas por unidade de anidroglicose da celulose que são substituídas por grupos carboximetilas) e o grau de polimerização (numero médio monoméricos de anidroglicose, substância derivada de um ácido pela eliminação de uma ou mais moléculas de água), isto é, quanto maior o grau de substituição

e/ou uniformidade de substituição, maior a solubilidade em água. A solubilidade também aumenta com a temperatura, é insolúvel em solventes orgânicos, mas dissolve bem em misturas de água e solventes miscíveis em água, como etanol (USSUY, 2002).

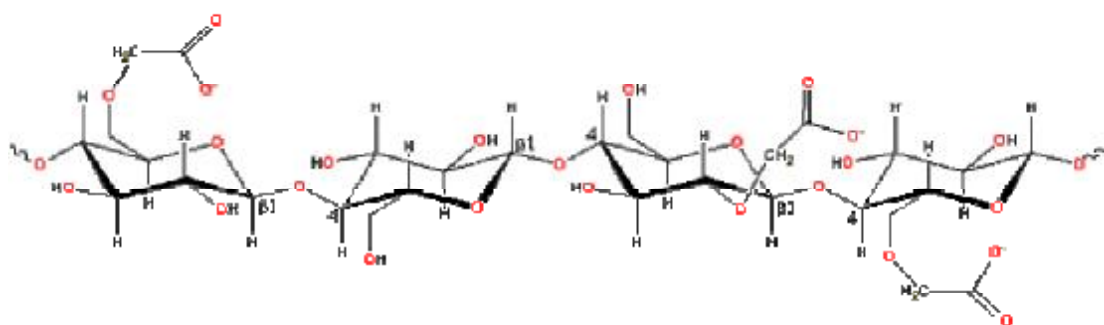


Figura 4 – Molécula da Carboximetilcelulose (In: ROHR, 2007).

A CMC é aeróbica e anaerobicamente biodegradável por bactérias encontradas no meio ambiente, produzindo pequenas quantidades de fragmentos de CMC e açúcares. Porém sua biodegradabilidade varia de lenta a muito lenta (EMBRAFARMA, 2010).

Devido as suas propriedades, tais como: solubilidade na água fria e quente, aumento da viscosidade na solução, habilidade para formar filme, adesividade, características de suspensão, retenção da água, resistência a óleos, gorduras e solventes orgânicos, o CMC tem uma ampla aplicação, tanto na formulação de muitos produtos alimentícios e cosméticos, como espessante em loções e xampus, quanto no melhoramento de seus processamentos (KÄISTNER, 1996).

3.2.2. Polímeros naturais modificados

Um problema encontrado em polímeros naturais é que eles frequentemente levam muito tempo para degradar. Isto pode ser resolvido adicionando-se grupos polares às cadeias, que por serem mais lábeis podem diminuir o tempo de degradação. Exemplos destas modificações podem ser a

reticulação de gelatina utilizando-se formaldeído, a reticulação de quitosana utilizando-se glutaraldeído, levar celulose a acetato de celulose. (AZEVEDO, 2002).

3.2.3. Polímeros sintéticos

São também largamente utilizados, como, por exemplo, poli(etileno), poli(álcool vinílico), poli(ácido acrílico), poli(acrilamidas), poli(etilenoglicol), poliésteres. No caso dos poliésteres, estes são mais utilizados pelo químico e têm no poli(glicolide) o polímero alifático linear mais simples (AZEVEDO, 2002).

3.3. POLÍMERO NÃO BIODEGRADÁVEL

São utilizados na liberação de princípios ativos, dos quais os polímeros derivados de celulose e acrílicos encontram vasta aplicação na fabricação de formas de dosagem peroral, filmes transdérmicos e outros dispositivos. A mistura de polímeros com propriedades diferentes permitem um ajuste das formulações para o maior controle de liberação do princípio ativo (OLIVEIRA; LIMA, 2006).

3.4. MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE SISTEMAS DE NANOPARTÍCULAS

Há vários métodos diferentes de preparação de sistemas nanoparticulados. Os mais destacados e utilizados são

3.4.1 Método Mecânico

É mais utilizado comercialmente, e o método mecânico mais conhecido é o “*Spray Drying*” (secagem em spray), em que o princípio ativo, em solução ou dispersão, é nebulizado, juntamente

com material revestidor solubilizado ou fundido. Isto é feito em uma câmara de evaporação, causando a rápida solidificação das gotículas originando as partículas (AZEVEDO, 2002).

3.4.2 Método Físico-Químico

Os métodos físicos-químicos são baseado na dissolução do princípio ativo, juntamente com um polímero, em determinado solvente, seguida pela adição, sob agitação constante, de um não-solvente a mistura. O não solvente causa a precipitação do polímero ou pode ocorrer também a separação de fases (chamado de processos coacervação). Estes processos podem ser divididos em simples (por mudança no pH, força iônica, temperatura) ou complexos (complexação entre dois polieletrólitos de carga oposta). A copolimerização interfacial, pelo contato entre os monômeros na interface, forma nanocápsulas (AZEVEDO, 2002).

4. LEISHMANIOSE

A leishmaniose é uma doença crônica, de manifestação cutânea, mucocutânea ou visceral, causada por protozoários flagelados do gênero *Leishmania*. É uma zoonose comuns em animais como o cão e ao homem. É transmitida ao homem pela picada do mosquito flebotomíneos chamados de mosquito palha (Figura), do gênero *Lutzomyia* ou *Phlebotomus* (BASANO; CAMARGO, 2004).



Figura 5 – Mosquito palha, transmissor da Leishmaniose.

Esta parasitose ocorre na Ásia, Europa, África e Américas, no continente americano á relatos desde a época colonial. Basicamente podemos diferenciar duas formas de leishmaniose: a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (Figura) e a Leishmaniose Visceral Americana (LVA) (RATH, 2003).

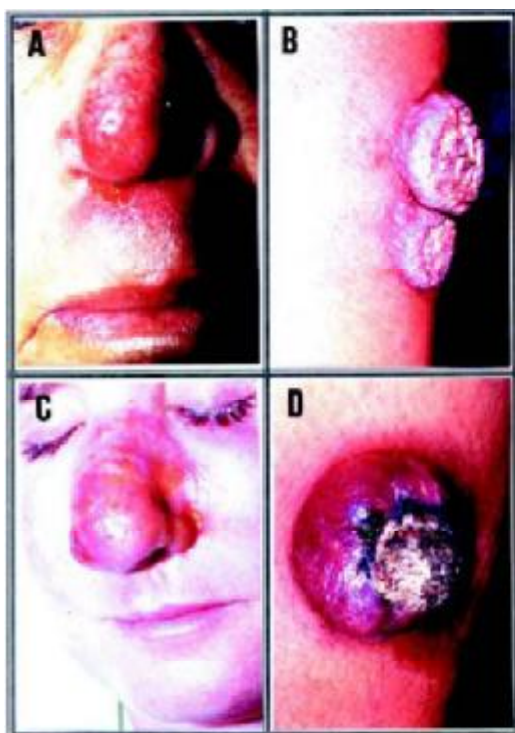


Figura 6 – (A) LTA infiltração nasal; (B) LTA forma vegetante; (C) e (D) diagnóstico diferencial da LTA (In: GONTIJO; CARVALHO, 2003).



Figura 7 – (A) LTA forma hiperkeratósica; (B) LTA forma difusa; (C) e (D) diagnóstico diferencial da LTA (In: GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Segundo a Organização Mundial da Saúde 90% dos casos de leishmaniose visceral são registrados em Bangladesh, Brasil, Nepal, Índia e Sudão; 90% dos casos da leishmaniose mucocutânea ocorrem no Brasil, Bolívia e Peru e 90% dos casos da leishmaniose cutânea ocorrem no Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

A Leishmaniose é normalmente tratada com antimônios, mas outras drogas têm sido empregadas no tratamento, como a Anfotericina B, sendo indicada para o tratamento da leishmaniose mucocutânea americana, embora não se considere fármaco de primeira

eleição. A anfotericina B pode ser incorporada em lipossomas carregadores sendo absorvida pelo sistema reticulo endotelial onde o parasita da leishmania reside, e é assim pouco absorvido pelos rins, o maior órgão alvo para a toxicidade da anfotericina B (RATH, 2003).

5. ANFOTERISINA B

A Anfoterisina B (Figura) é um antifúngico, produzido por uma cultura de bactérias *Streptomyces nodosus*, foi inicialmente isolada em 1955 e, desde então, apenas alguns agentes com ação antifúngica descoberta tornaram-se viáveis para o tratamento das infecções fúngicas sistêmicas (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

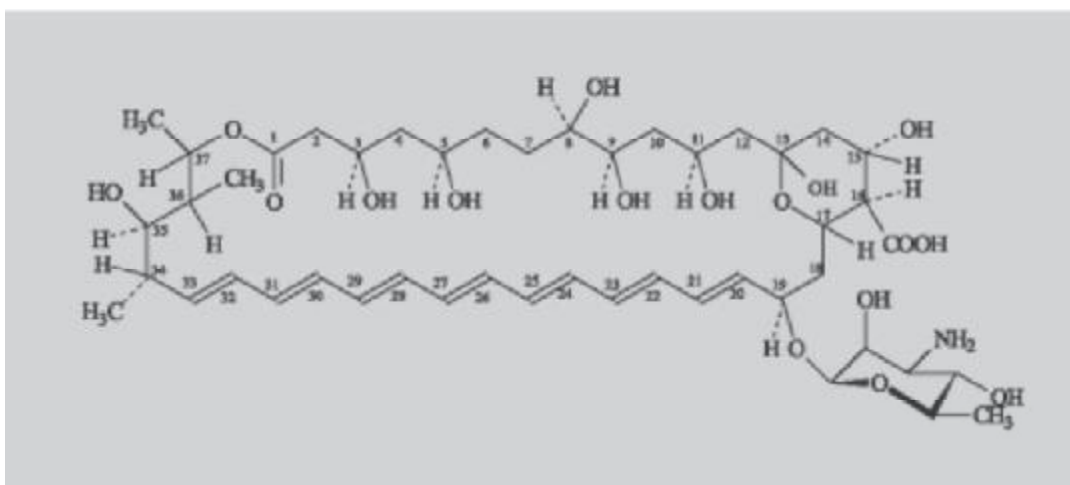


Figura 8 – Estrutura química da Anfotericina B (In: FILIPPIN; SOUZA 2006).

Mesmo com sua elevada toxicidade a Anfotericina B tem grande aspecto de ação e mais de 50 anos de uso clínico têm assegurado seu uso como fármaco de escolha no tratamento da maioria das micoses sistêmicas que atingem pacientes imunocomprometidos, com febre persistente e não tiveram resposta à terapia antibacteriana apropriada.

A Anfotericina B é utilizada no tratamento de pacientes com infecções fúngicas progressivas e potencialmente graves como: aspergilose; blastomicose, candidíase disseminada; coccidioidomicose; criptococose; endocardite fúngica; endoftalmite candidiásica; infecções intraabdominais, incluindo peritonites relacionadas e não

relacionadas com o processo de diálise; leishmaniose mucocutânea. Além disso, a AB não tem efeito sobre bactérias e vírus.

A AB é contra indicado na insuficiência renal e em pacientes que tenham demonstrado hipersensibilidade a AB ou algum outro componente da formulação, a menos que a opinião do médico, a condição que requer o tratamento envolva risco de vida e seja sensível à terapia com AB. Deve ser utilizado somente em pacientes hospitalizados. Durante o emprego intravenoso da AB, é comum a ocorrência de reações agudas tais como: calafrios, febre, anorexia, náuseas, vômitos, cefaléias, mialgia, artralgia e hipotensão (REIS, 2012).

6. TENSOATIVO

Os tensoativos ou surfactantes como também são chamados, são substâncias que diminuem a tensão superficial ou influenciam na superfície de contato entre dois líquidos. São também utilizados como emulsionantes que mantem uma emulsão. Esses tensoativos podem ser classificados em: catiônicos, aniônicos e anfóteros e não iônico (QGS, 2010).

Os tensoativos catiônicos possuem um ou mais agrupamentos funcionais que ao se ionizar em solução aquosa, fornece íons orgânicos carregados positivamente. E os tensoativos aniônicos possuem um ou mais agrupamentos funcionais que ao se ionizar em solução aquosa, fornece íons orgânicos carregados negativamente. Os anfóteros quando em solução aquosa possuem características aniônicas ou catiônicas dependendo das condições de pH da solução. E o não iônico não se ionizam, logo não possuem carga (DALTIM, 2011)

Os compostos tensoativos são substâncias anfifílicas, ou seja, possuem em sua estrutura molecular grupos com características antagônicas. Em todas as moléculas tensoativas há um grupamento polar que possui afinidade por água, denominado grupo hidrofílico. Na mesma molécula há também o chamado grupo hidrofóbico, que por sua natureza apolar, não possui afinidade por água, mas possui por substâncias oleosas, sendo chamado muitas vezes de grupamento lipofílico. Todos os agentes tensoativos são constituídos, portanto, de moléculas que exibem duas porções estruturais distintas que manifestam tendências opostas de solubilidade (PEDRO, 2012).

O tensoativo utilizado neste trabalho foi o ácido esteárico (Figura 15) ou também chamado de ácido octadecanóico é um ácido graxo saturado, pó branco a levemente amarelado, insolúvel em água, facilmente biodegradado no solo e na água e de odor característico (SANTIN, 2006).

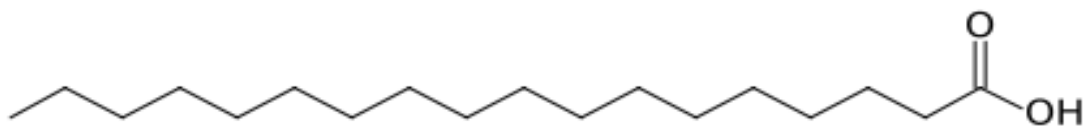


Figura 9 – Ácido Esteárico (In: WIKIPÉDIA).

O ácido esteárico é aplicado em cosméticos como co-tensoativo, agente de viscosidade em pomadas e emulsões, na produção de cremes para barbear, sabonetes, loções cremosas, xampus e medicamentos como lubrificante de comprimidos e cápsulas (SANTIN, 2006).

7. METODOLOGIA

O procedimento experimental para a produção de nanocápsulas será realizado segundo Guinebretière et al, 2002.

7.1. MATERIAIS E REAGENTES

Carboximetilcelulose

Clorofórmio P.A.- (Synth)

Ácido Esteárico

Acetona

Água destilada

Balança Analítica (Tecnal AG 200)

Balança Semi-analítica (Gehaka BG 1000)

Agitador magnético (Quimis Q261-22)

Ultraturrax (Polytron PT-DA2120/2EC)

Microscópio (OPTON – TIM – 2005-B)

Centrifuga (Tecnal)

7.2. VIDRARIAS

1 pipeta volumétrica de 10ml

1 pipeta volumétrica de 3ml

1 pipeta de paster

3 becker de 250ml
1 becker de 600ml
1 bastão de vidro
1 espátula
4 tubos de ensaio
1 pipeta
1 proveta de 100ml

7.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Preparou-se duas fases: (a) a fase orgânica b) a fase aquosa. Foram produzidos nanocápsulas na ausência e presença de anfotericina B.

Na fase orgânica preparou-se uma solução 70% de acetona, 27% de clorofórmio e 3% de água destilada em um balão volumétrico de 250ml. Na fase aquosa preparou-se uma solução 10% de acetona e 90% de água.

Pesou-se em uma balança semi-analítica 2,00g do polímero (carboxmetilcelulose) em um becker de 250ml. Transferiu-se o polímero para o becker de 600ml e diluiu-se o polímero com 100ml de água destilada com agitação constante em um agitador magnético durante 20 min. Deixou-se em repouso o polímero em 24hs, para que houvesse a hidratação.

Pesou-se 0,02g de anfotericina B e adicionou-se à fase aquosa.

Pesou-se 3,50g de ácido esteárico em um becker de 250ml e adicionou-se a solução orgânica, para solubilizar o ácido esteárico (tensoativo).

Depois de solubilizado o ácido esteárico e a anfotericina B, adicionou-se os dois no becker que continha o polímero hidratado.

Em seguida, a solução foi agitada a 19000 rpm em ultraturrax, durante aproximadamente 10 minutos. Em seguida, triplicou-se o volume com água destilada para induzir a difusão do solvente. Após a adição de água sobre a emulsão, deixou-se em repouso a solução por 24hs,

descartou-se o sobrenadante e levou-se o precipitado para a centrifuga durante 30 minutos para a separação das nanocápsulas do solvente. O solvente e parte da água foram removidas com uma pipeta de paster.

O organograma do procedimento experimental está apresentado na figura

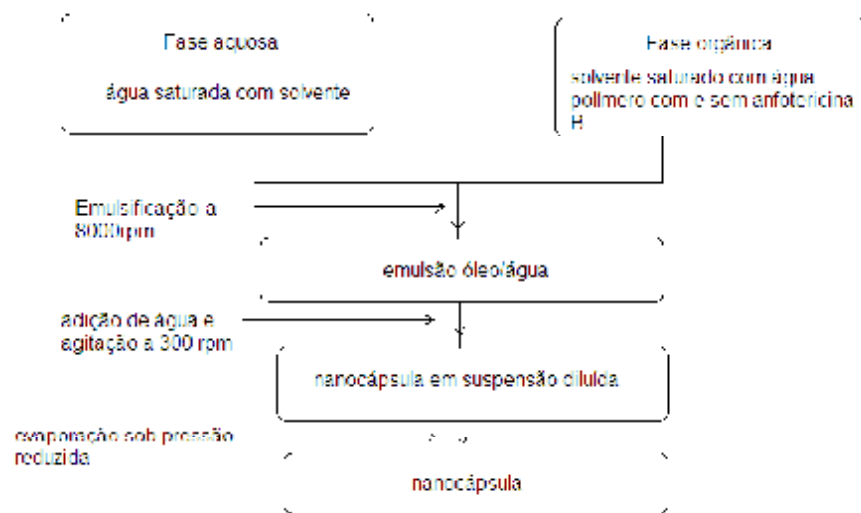


Figura 10 - Esquema do procedimento de produção das nanocápsulas.

8. RESULTADO E DISCUSSÃO

A figura 11 demonstra o resultado do experimento de produção de nanocápsulas.

Na figura 11 A demonstra a mistura da fase orgânica com a fase aquosa com a anfotericina B, figura 11 B demonstra a mistura da fase orgânica com a fase aquosa na ausência de anfotericina B. A figura 11 C mostra a emulsão formada após a solução ter sido colocada no aparelho ultraturrax. Deixando em repouso a solução por 24h formou-se uma solução esbranquiçada no fundo do Becker, como mostra a figura 11 D. Na figura 11 E as possíveis nanocápsulas foram levadas para a centrifuga, para separar as nanocápsulas do sobrenadante.



Figura 11 A – Mistura de fases com a anfotericina B.

Figura 11 B – Mistura de fases na ausência de anfotericina B.



Figura 11 C – Emulsão.

Figura 11 D – Nanocápsulas em suspensão.



Figura 11 E – Nanocápsulas centrifugadas.

Para a visualização da formação de nanocápsulas, retirou-se um alíquota da solução contendo as possíveis nanopartículas e adicionou-se em uma lamina de microscópio e verificou-se a formação dessas pequenas partículas. Observou-se uma possível formação dessas nanopartículas, mas não se pode ter certeza do resultado obtido, pois o microscópio utilizado foi o óptico, onde a visualização dessas nanocápsulas é dificultado. Os diluentes utilizados também pode ser que não colaboraram para um melhor resultado do experimento. A figura 12 e 13 demonstra a observação feita no microscópio óptico.

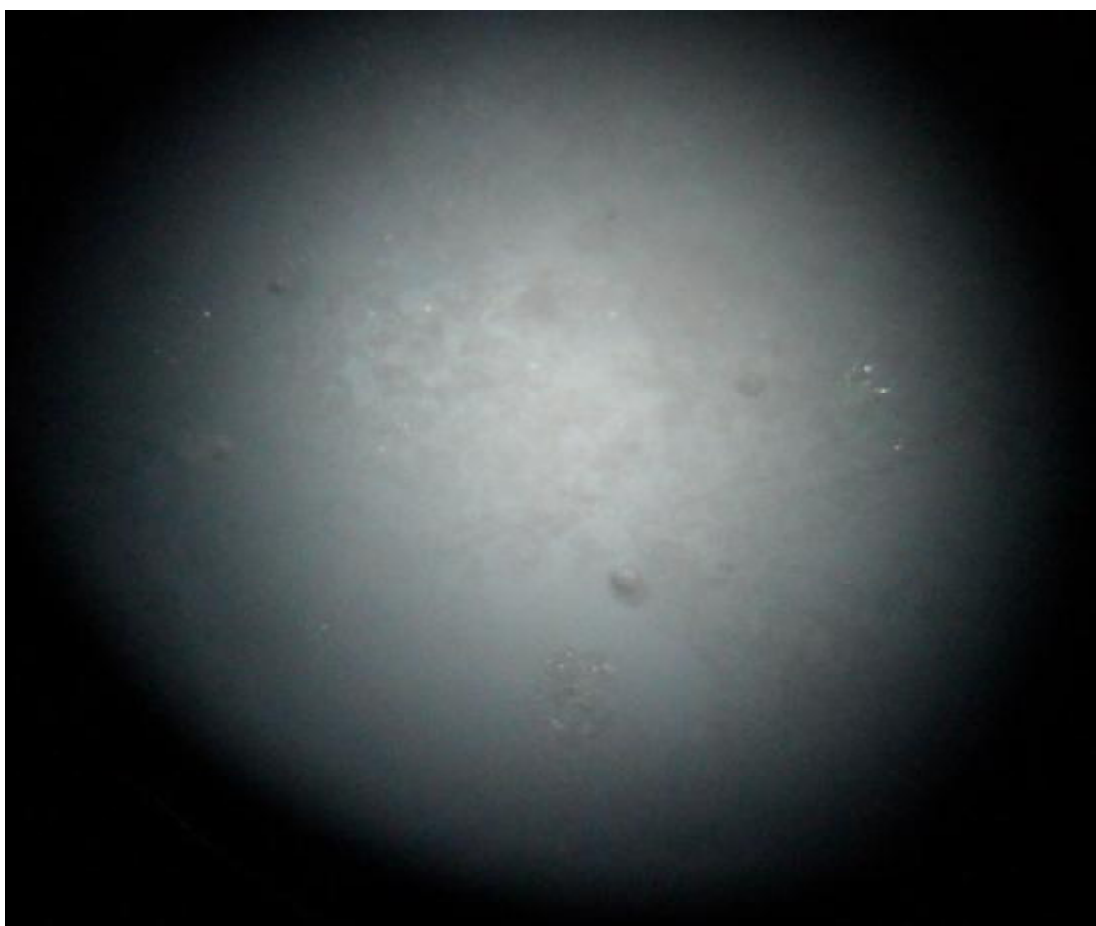


Figura 12 – Possíveis nanocápsulas observadas no microscópio óptico.

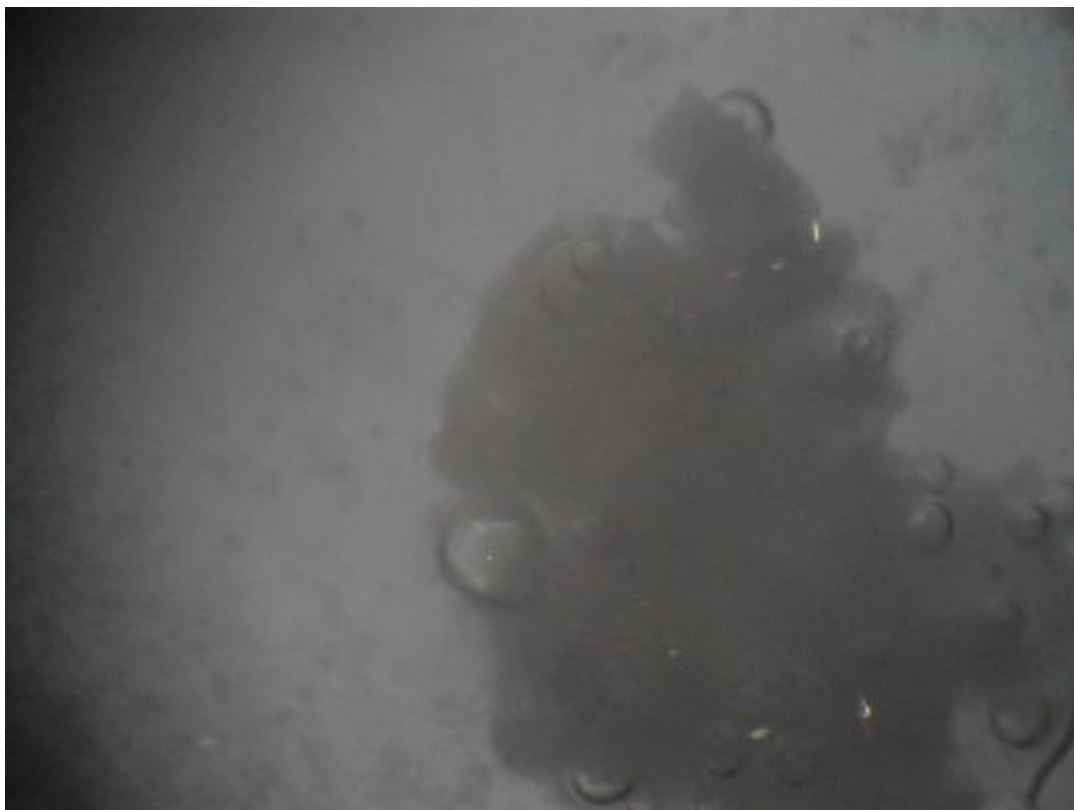


Figura 13 - Possíveis nanocápsulas observadas no microscópio óptico.

9. CONCLUSÃO

Os resultados de microscopia demonstram a formação pequenas estruturas esféricas, porém outros métodos de caracterização devem ser utilizados para confirmar se as estruturas observadas são nanocápsulas.

REFERÊNCIAS

ALVES, Oswaldo Luiz. **A nanotecnologia cumprindo suas promessas**. Laboratório Química do Estado Sólido, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil. Disponível em: http://iqes.iqm.uicamp.br/imagens/pontos_vista_artigo_divulgacao_33_1_nanotecnologia_promessas.pdf Acesso em: 17. Outubro. 2011.

ANTUNES, Célia, 2007. **Lipossomas e as suas aplicações na atualidade**. Disponível em: <http://quimicaparatodosuevora.blogspot.com.br/2011/01/lipossomas-e-as-suas-aplicacoes-na.html>. Acesso em: 07 de julho de 2012.

BARBUGLI, Paula. **Nanocápsulas podem reduzir os custos de cosméticos**. Disponível em: <http://www.usp.br/agen/?p=91192>. Acesso em: 09 de julho de 2002.

BASANO, Sergio de Almeida; CAMARGO, Luís Marcelo Aranha. Leishmaniose Tegumentar Americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira Epidemiol.** V.7, nº 3, 2004, p.328-337.

BATISTA, Cinthia Meireles; CARVALHO, Cícero Moraes Barros; MAGALHÃES, Nereide Stela Santos. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica.** v.43, nº2,abr./jun., 2007, p. 01-167.

BIO-MÉDICIN, 2012. **Cosmético Inteligente**. Disponível em: https://ss1579.websiteseuro.com/biomedicin2/shop/infos.asp?lang=pt_br&codigo_texto=4. Acesso em: 20 de março de 2012.

BOAVENTURA, Gustavo, 2010. **Nanotecnologia em cosméticos oferece risco à saúde?** Disponível em: <http://www.cosmeticaemfoco.com.br/2010/05/nanotecnologia-em-cosmeticos-oferece.htm/>. Acesso em: 18. Outubro. 2011.

DALTIN, Decio. **Tensoativos – Química, propriedades e aplicações**. Ed. I. Editora Blucher, 2011.

DURÁN, Nelson; AZEVEDO, Marcelo M. M., 2009. **O que é Nanobiotecnologia? Atualidade e Perspectivas**. Disponível em: http://www.ifi.unicamp.br/extensao/oficinas/anteriores/of_9_duran.doc. Acesso: 20/03/2012

EMBRAFARMA, 2010. **Carboximetilcelulose de sódio**. Disponível em: <http://www.embrafarma.com.br/novo/modules/pdf/d395771085aab05244a4fb8fd91bf4ee.pdf>. Acesso em: 08 de julho de 2012.

FILLIPIN, F.B., SOUZA, L.C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** vol. 42, n. 2, abr./jun., p. 167-194, 2006.

GONTIJO, Bernardo; CARVALHO, Maria de Lourdes Ribeiro. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V.36.nº1, jan-fev, 2003, p.71-80.

GUINEBRETIERE,S., BRIANÇON,S., LIETO, J., MAYER, C., FESSI, H. **Study of the Emulsion-Diffusion of Solvent: Preparation and Characterization of Nanocapsules**. *Drug Development Research*, vol. 57 p. 18 – 33, 2002.

KÄISTNER, U., HOFFMANN, H., DÖNGES R. AND HILBIG, J. Structure and solution properties of sodium carboxymethyl cellulose, **Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp.** 123-124 (1997) 307-328).

KÜLKAMP, Irene Cledes; GUTERRES, Sílvia Stanisquaski; PAESE, Karina; POHLMANN, Adriana Raffin. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. **Revista Química Nova**, v.32, n.8, setembro, 2009, p.2078-2084.

MARTINELLO, Tiago; AZEVEDO, Valeska Cristina, 2009. **Nanotecnologia em Cosméticos.** Disponível em: <<http://.racine.com.br/portal-racine/farmacias-e-drogarias/manipulacao-magistral/nanotecnologia-em-cosmeticos>>. Acesso em: 18. Outubro. 2011.

MORALES, Valéria, 2010. **Nanotecnologia.** Disponível em: <http://valeestetica.blogspot.com.br/2010/10/nanotecnologia-nanotecnologia-e.html>. Acesso em: 07 de julho de 2012.

MUEHLMANN, L. A., 2011. **Aos nanotecnólogos também interessam as emulsões. A farmácia agradece** Disponível em: <http://nanohoje.blogspot.com.br/2011/03/agua-e-oleo-nao-se-misturam-bom-essa.html>. Acesso em : 07 de julho de 2012.

NECKEL, Gecioni loch; SENNA, Elenara Lemos, 2005. **Preparação e caracterização de nanocápsulas contendo Campototecina a partir do ácido poli (D, L-lático) e de copolímero diblocos do ácido poli (D, L-lático) e Polietilenoglicol.** Disponível em: < http://www.latamipharm.org/trabajos/24/4/LAJOP_24_4_1_3_2DS6LR487P.pdf>. Acesso em: 22. Agosto. 2011.

OLIVEIRA, R. B., LIMA, E.M. **Polímeros na Obtenção de Sistemas de liberação de Fármacos.** *Revista Eletrônica de Farmácia*, vol 3, no. 1, p. 29-35, 2006.

PEDRO, Ricardo, 2011. Tensoativos considerações gerais e breve história. **Revista H&C.** V.XIII, n. 73, Mai/Jun, 2012, p. 01.

PEREIRA, Maria Alves. **Nanocápsulas: Preparação, caracterização e marcação com ^{99m}Tc-HMPO para estudos de biodistribuição em modelo experimental de inflamação.** 2006. 103p. Dissertação (Pós-graduação) Ciência Farmacêutica Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

PIATTI, Isabel Luiza. Nanotecnologia na Estética: ciência que conduz beleza. **Revista Personalité**, v.49, agosto, 2011, p.02-04.

PIMENTEL, Lúcio Figueira; JÚNIOR, Agenor Tavares Jácome; MOSQUEIRA, Vanessa Carla Furtado; MAGALHÃES, Nereide Stela Santos. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica**. v. 43,.n.4,out/dez,2007.

QGS, Química Geral do Sul Ltda, 2010. **Teoria e Prática dos Tensoativos**. Disponível em: http://www.qgsquimica.com.br/qgs/det_comunicacao.php?id=55&det_comunic=3. Acesso em: 09 de julho de 2012.

RAFFIN Renata P; OBACH, Eliane S; MEZZALIRA, Graziela, POHLMANN, Adriana R; GUTERRES, Sílvia S. **Nanocápsulas poliméricas secas contendo indometacina: estudo de formulação e de tolerância gastrointestinal em ratos**. Artigo Científico, Universidade federal do Rio grande do Sul, RS, janeiro, 2003, p.01-10.

RATH, S., TRIVELIN, L.A., IMBRUNITO, T.R., TOMAZELA, D.M., JESÚS, M.N., MARZAL, P.C., **Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte**, *Química Nova*, 26(4), 550-555, 2003.

REIS, Joaquim A. **Anfotericina B**. Disponível em: http://www.medicinanet.com.br/bula/8010/anfotericina_b.htm. Acesso em: 13 de julho de 2012.

ROHR, Tiago Gusmão. **Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano**. 2007. 113p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Tecnologia Engenharia Química Universidade federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - Rio de Janeiro, 2007.

SANTIN, Juliana. **Ácido Esteárico: uma gordura saturada única**. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/carne-saude/acido-estearico-uma-gordura-saturada-unica-28295/>. Acesso em: 09 de julho de 2012.

SANTOS, Elizabete P.. **Nanotecnologia: Fundamentos, Aplicações e Oportunidades**. Disponível em: <http://www.abihpec.org.br/conteudo/nanotecnologia/RJ/RJ-ABIHPE-ElisabeteSantos.pdf>. Acesso em: 20 de março de 2012

SHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos**. Química Nova, v.26, no. 5, 726-737, 2003.

USSUY, Aduleene L. F. **Estudo das propriedades físico-químicas de sistemas anfifílicos/polímeros**. 2002. 26p. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial) Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA/Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

WIKIPÉDIA. **Ácido Esteárico**. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_este%C3%A1rico. Acesso em: 09 de julho de 2012.

