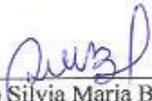
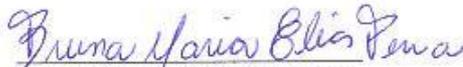


FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DO MUNICÍPIO DE ASSIS
INSTITUTO MUNICIPAL DE ENSINO SUPERIOR DE ASSIS

Projeto de Iniciação Científica

Desenvolvimento de Nanocápsulas para incorporação de fármaco


Prof.(a) Dr.(a) Silvia Maria Batista de Souza


Aluna: Bruna Maria Elias Pereira

Assis, 17 de dezembro de 2008.

1. Introdução

Um “nanômetro” (nm) equivale a um bilionésimo de metro. Ao se conseguir fazer manipulações precisas na nano escala, ou seja, na escala dos átomos e das moléculas, abre um mundo de aplicações possíveis em todos os setores da economia: computadores podem ficar menores e mais rápidos, fármacos podem permear o corpo de forma mais completa e ter células específicas como alvo; catalisadores (usados para acelerar reações químicas, inclusive processos de refinamento de petróleo) podem ser tornados mais reativos; sensores podem monitorar tudo – desde plantas, a vacas, foices, armas químicas e clientes – com maior precisão; os materiais podem ser mais fortes, mais leves e mais “inteligentes” (GÖRGEN , 2003).

Nanocápsulas (figura 1 a) são estruturas coloidais constituídas por vesículas de um fino invólucro de polímero biodegradável e uma cavidade central com núcleo oleoso, no qual a substância ativa encontra-se dissolvida, sendo, por isso, consideradas um sistema reservatório, o qual apresenta diâmetro submicrométrico, variando entre 10 a 1000 nm. (SHAMALT,2005). Nanoesferas (figura 1 b) são estruturas coloidais onde o fármaco insere-se na parede polimérica da estrutura.

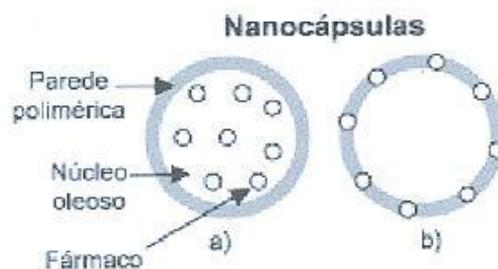


Figura 1: Representação esquemática de nanocápsulas (a) e nanoesferas (b)

Sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos. Nas formas de administração convencionais (injeção, pílulas).

Desde que cada droga possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual ela é tóxica e abaixo da qual ela é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas. Este fato é problemático se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica.

O objetivo dos sistemas de liberação controlada é manter a concentração do fármaco entre estes dois níveis por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única dosagem (DURÁN, 2002).

- Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco;
- Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação;
- Administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses);
- Direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas.

Portanto, sistemas de liberação controlada representam um desenvolvimento relativamente novo e, quanto às suas necessidades, têm o objetivo de prolongar e melhorar o controle da administração de fármacos.

A anfotericina B (figura 2) é um antifúngico produzido por cultura de bactérias *streptomyces nodosus*. Em geral, atua como fungistático (inibe o crescimento dos fungos, mas não os mata); embora, em concentrações próximas dos limites superiores de tolerância possa ser fungicida (mata o fungo).

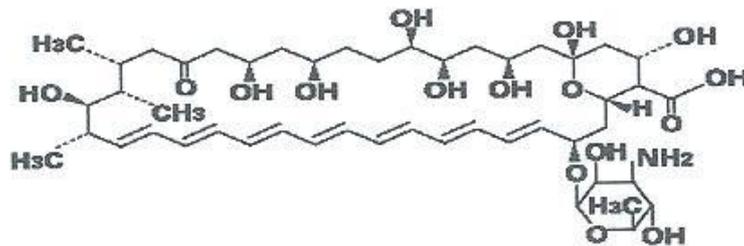


Figura 2: Fórmula estrutural da anfotericina B

Mesmo com a sua elevada toxicidade e a introdução de antifúngicos azólicos sistêmicos na década de 1980 (Dismukes, 2000), a potência, o espectro de ação e os quase 50 anos de experiência clínica têm assegurado que a anfotericina B permaneça como fármaco de escolha no tratamento da maioria das micoses sistêmicas que acometem pacientes imunocomprometidos.

Como quase todos os antifúngicos, atua ligando-se e alterando especificamente os esteróis da membrana celular das células do fungo (ergosterol), que têm composição diferente do esterol das células humanas, que é o colesterol.

Na figura 3, é apresentado um esquema da membrana celular humana. Nesta figura pode-se observar que na membrana celular humana estão inseridas moléculas de colesterol, na membrana celular de fungos as moléculas de colesterol são substituídas por moléculas de ergosterol.

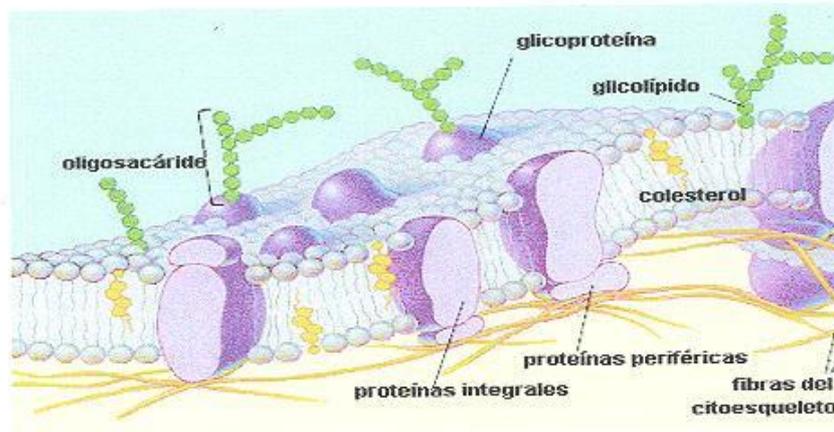


Figura 3: Membrana celular humana

Na figura 4 a e b, são apresentadas as estruturas moleculares de colesterol e ergosterol, respectivamente.

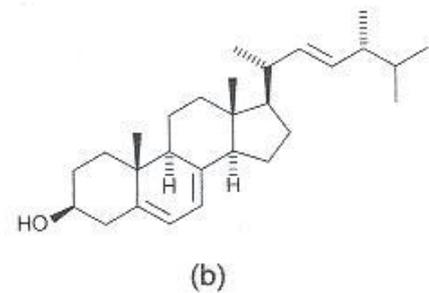
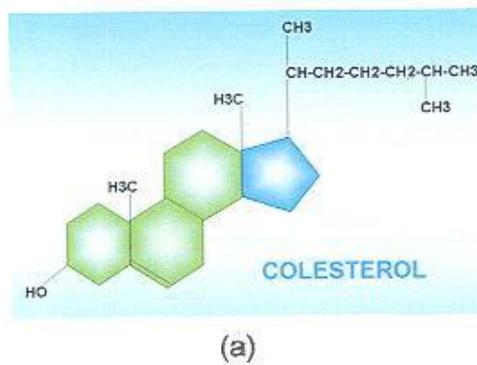


Figura 4: Estrutura molecular do colesterol (a), ergosterol (b)

A anfotericina B liga-se aos esteróis da membrana celular do fungo, o que altera sua permeabilidade e a célula perde potássio e moléculas pequenas. Distribui-se em pulmões, fígado, baço, rins, glândula supra-renal, músculos e outros tecidos; sua união às proteínas é muito alta. Não se conhece seu metabolismo. Sua meia-vida inicial é de 24 a 48 horas e a meia-vida terminal é de 15 dias; elimina-se de forma lenta por via renal (FELIPPIN, 2006).

Derivado de celulose são solúveis em água e biocompatíveis podendo ser utilizados para a produção de nanocápsulas. Tendo diversas aplicações tais como:

- Espessante;
 - Doador de viscosidade para algumas formulações de detergentes;
 - Ligante;
 - Estabilizante;
 - Agente de suspensão;
 - Retenção de água;
 - Formação de filmes resistentes a óleos, graxas e solventes orgânicos;
 - Meio suporte para imobilização de enzimas e/ou microrganismos.
- (<http://pt.wikipedia.org>)

O Ácido Esteárico (figura 5) conhecido também por Ácido octadecanóico, O ácido n-octadecílico e Ácido Cetil Acético, apresenta-se como um pó branco, de característica cerosa e odor característico, insolúvel em água.

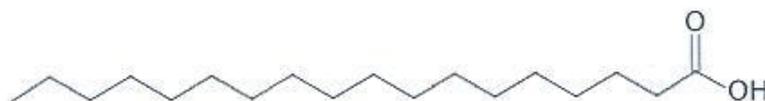


Figura 5: Estrutura molecular do ácido esteárico

O Ácido Esteárico é aplicado em indústria de cosméticos na produção de cremes para barbear, sabonetes, loções cremosas, shampoos, banhos de espuma, sabonetes líquidos. Também utilizado como lubrificante para adoçantes em tabletes (www.nutrichen.com.br).

A **leishmaniose** é a doença provocada por um parasita de uma só célula – o protozoário *Leishmania chagasi*, que se aloja no interior das células de defesa do organismo e danifica o baço, o fígado e a medula dos ossos. Há três tipos de leishmaníase: visceral, que ataca os órgãos internos, cutânea, que ataca a pele, e mucocutânea, que ataca as mucosas e a pele. Nas últimas três décadas as autoridades da saúde começaram a identificar os primeiros casos contraídos nas próprias cidades, inicialmente no Nordeste (ZORZETTO, 2008). Na tabela 1, é

apresentado uma tabela relacionando a leishmaniose no novo mundo com relação aos seu agente etiológico.

Tabela 1: Leishmaniose do Novo Mundo e seus agentes etiológicos

Leishmaníase tegumentar americana	-	-	Leishmaníase visceral
Leishmaníase cutânea	Leishmaníase mucocutânea	Leishmaníase cutâneo-difusa	Leishmaníase visceral americana
-	-	L. infatum	L. infatum(= L. chagasi)
L. braziliensis	L. braziliensis	-	-
L. panamensis	L. . panamensis	-	-
L. peruviana	-	-	-
L. guyanensis	-	-	-
L. venezuelensis	-	-	-
L. mexicana	-	L. mexicana	-
L. amazonensis	-	L. amazonensis	-
L. pifanoi	-	L. pifanoi	-

Tendo em vista a importância de novas formas de veiculação de anfotericina B e a importância tecnológicas das nanocápsulas, este trabalho tem por objetivos produzir nanocápsulas e nelas incorporar anfotericina B

2. Metodologia

2. 1. Reagentes

- Clorofórmio P.A. – A.C.S Synth
- Água destilada
- Ácido esteárico Synth
- Polímero derivado de celulose

2.2. Materiais

- Balança Analítica (Tecnal AG 200)
- Agitador magnético (Quimis Q261-22)
- Ultraturrax (Polytron PT-DA2120/2EC)
- Microscópio (OPTON – TIM – 2005 – B)
- Rota Evaporador (Tecnal Te 210)
- 1 pipeta volumétrica de 10 ml
- 1 pipeta volumétrica de 01 ml
- 1 becker de 100 ml
- 1 becker de 500 ml
- 1 becker de 2000 ml
- 1 bastão de vidro
- 2 balões volumétricos de 100 ml
- 1 pisseta

2.3 Procedimento

Preparou – se duas fases, a fase orgânica e a fase aquosa, na fase orgânica preparou-se uma solução 97% de clorofórmio e 3% de água destilada em um balão volumétrico de 100 ml, na fase aquosa preparou – se uma solução 90% de água e 10% de clorofórmio em um balão volumétrico de 100 ml.

Pesou – se em uma balança semi – analítica 2,0805 g do polímero de celulose em um becker de 250 ml. Transferiu – se o polímero para o becker de 500 ml e diluiu-se o polímero com 100 ml de água destilada com agitação constante em um agitador magnético durante 20 mim. Deixou-se em repouso o polímero de um dia para o outro para que haja a hidratação.

Pesou – se 0,02 g do fármaco anfotericina B e adicionou-se à fase aquosa.

Pesou – se 7,5511 g de ácido esteárico em um becker de 250 ml e adicionou-se a solução orgânica, para solubilizar o ácido esteárico.

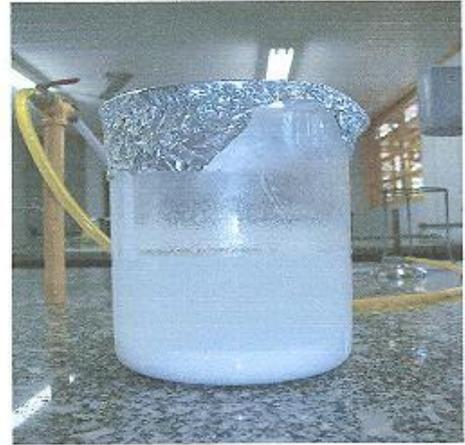
Depois que solubilizou – se o ácido esteárico e a anfotericina B, adicionou – se o ácido esteárico e a anfotericina B solubilizados no becker que continha o polímero hidratado, agitou – se com um bastão de vidro a mistura e levou – se a mistura para o aparelho ultraturrax durante 19 mim com uma rotação de 23 rpm para se formar a emulsão., triplicou – se o volume final da emulsão deixou – se em repouso de um dia para o outro , descartou – se o sobrenadante e levou – se o precipitado para a centrifuga durante 30 mim, separando – se as nanocápsulas do solvente.

3. Resultados e Discussão

Na figura 6, são apresentados os resultados dos experimentos de produção das nanocápsulas. Pode-se observar que a se forma uma emulsão branca e ainda o sobrenadante mostra-se levemente amarelado devido, provavelmente, por haver anfotericina B dissolvida figura 6 A. Na figura 6 b, observa-se após ser triplicado o volume inicial, formando uma emulsão branca em baixo e o sobrenadante. Na figura 6 c, a emulsão após a centrifugação. E na figura 6 d, é apresentada a emulsão após a adição de etanol. Nesta etapa do procedimento pode-se observar que houve ruptura das nanocápsulas com a liberação da anfotericina B que estava em seu interior.



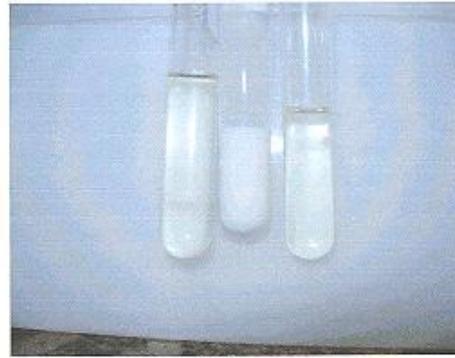
(a)



(b)



(c)



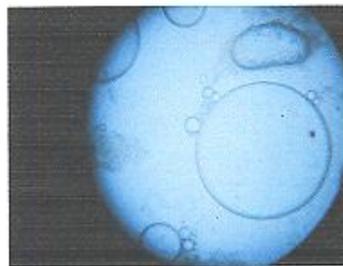
(d)

Figura 6: Seqüência de preparação das nanocápsulas

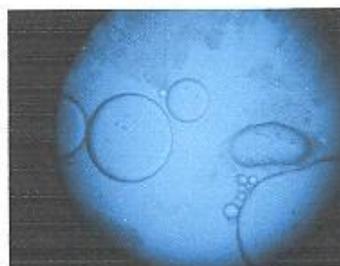
Caracterização das Nanocápsulas

Retirou-se uma aliquota da solução contendo as nanocápsulas e adicionou-se em uma lâmina de microscópio. Adicionou-se uma gota de NaOH e em seguida, observou-se em microscópio óptico (figura 7 a e b).

Retirou-se uma aliquota da solução contendo as nanocápsulas e adicionou-se em uma lâmina de microscópio. Adicionou-se uma gota de azul de metileno e em seguida observou-se em microscópio óptico (figura c e d).



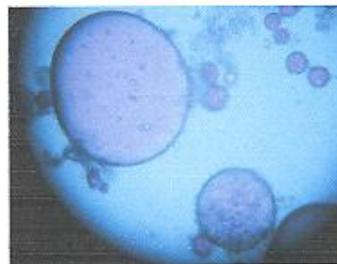
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 7: Nanocápsula com adicção de NaOH (a e b), nanocápsula após a adicção de azul de metileno (c e d)

Referências Bibliográficas

ANDRADE, RENATA MANFIO, Extração de pigmentos naturais e vegetais e purificação em coluna de cromatografia de açúcares comercial – TCC (1238).

DURÁN , N., AZEVEDO, M.N. Nanociência e Nanotecnologia.

FELIPPIN ,F., SOUZA, L. Eficiência Terapêutica das Formulações Nupídicas de Anfotericina B. Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica,

FERY, A., WEINKAMER, R. Mechanical properties of micro-and-nanocapsules: Single-capsule measurements.

GÖRGEN , S. Nanotecnologia o que vem depois dos transgênicos. vol 42.

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.

MANO, E, BIASOTTO. Introdução a Polímero, 1ª edição.

MÜLLER, R. H., SCHMIDT, S., BUTTLE, I., AKKAR, A., SCHMITT, J., BRÖMER, S. SolEmuls – novel technology for the formulation of i.v.emulsion with poorly soluble drugs.

OLIVEIRA R. B., LIMA E, M. Polímeros na Obtenção de Sistemas de Liberação de Fármacos. Revista eletrônica de farmácia vol. 3 p. 29 – 35. 2006.

REY, L. Bases da Parasitologia Médica 2º Edição

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

SHAMALT,C.,SANTOS,J.,GUTERRES,S. Nanocápsulas como tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. Infarma, 80 v.16, nº 13-14, 2005

TRABULSI, L, RACHID., ALTERTHUM, FLAVIO. Microbiologia, 4ªEdição.

ZORZETTO, R.,Revista Pesquisa, Setembro 2008 nº 151

Referências Eletrônicas

<http://pt.wikipedia.org/wiki/carboximetilcelulose>, acessado em 15/10/2008.

www.badaueonline.com.br, acessado em 18/10/2008

www.boellatinoamericana.org/download_pt/cartilha_nanotecnologia_freire_sergio.pdf

www.commons.wikimedia.org, acessado em 18/10/2008

www.consciencia.br/reportagens/nanotecnologia/nano, acessado em 18/10/2008

www.nutrichen.com.br, acessado em 15/10/2008.