

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO

ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012

**Maria Alice Martins
Morsyleide de Freitas Rosa
Men de Sá Moreira de Souza Filho
Nicodemus Moreira dos Santos Junior
Odílio Benedito Garrido de Assis
Caue Ribeiro
Luiz Henrique Capparelli Mattoso**

Editores

Fortaleza, CE

2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452,
CEP 13560-970 – São Carlos, SP
Fone: (16) 2107-2800
Fax: (16) 2107-2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
<http://www.cnpat.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpat.embrapa.br

**Comitê de Publicações da Embrapa
Instrumentação**

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira
Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra
Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula
Herrmann Júnior

**Comitê de Publicações da Embrapa
Agroindústria Tropical**

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim
Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana
Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano
Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley
Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner
Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures
Mourão, Viviane Soares
Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares
Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes,
Viviane Soares
Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice,
Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares
Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior
Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui
violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação na publicação.
Embrapa Instrumentação**

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São
Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular
ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de
Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira
dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz
Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria
Tropical.

© Embrapa 2012



USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS PARA ENCAPSULAR AZITROMICINA

DA SILVA, S. R.^{1,2}; RAPOSO, N. R. B.¹; LANGE, C. C.²; GERN, J. C.; BRANDI, R. R.^{1,2}; MATTOSO L. H. C.³; RIBEIRO, C.³; BRANDÃO, H. M.^{2*}

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil

² Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil

³ Embrapa Instrumentação Agrícola, São Carlos, SP, Brasil

*e-mail: humberto@cnpgl.embrapa.br

Projeto Componente: PC5

Plano de Ação: PA6 e PA2

Resumo

O processo de nanoencapsulamento permite modificar a biodistribuição, conferir novas características e promover a liberação sustentada de um fármaco. Nesse contexto, a busca por novas matrizes para o nanoencapsulamento de princípios ativos pode ser de grande interesse para a indústria farmacêutica. O presente estudo teve como objetivo avaliar o uso da própolis como matriz para o nanoencapsulamento da azitromicina e avaliar sua ação antibacteriana. Pode-se verificar que houve sucesso no encapsulamento da azitromicina em nanopartículas de própolis. Adicionalmente, a azitromicina nanoencapsulada apresentou maior atividade bactericida quando comparada a azitromicina em sua forma pura, porém mais estudos devem ser realizados a fim de otimizar o encapsulamento do antibiótico proposto.

Palavras-chave: Nanopartículas, própolis, azitromicina

Introdução

Compostos biodegradáveis utilizados com a intenção de promover a liberação controlada de fármacos, aumentando o índice terapêutico, conferindo novas características e/ou promovendo a liberação sustentada de fármacos são de grande importância no campo biomédico [1].

Neste contexto, produtos naturais vêm despertando interesse de empresas e da comunidade científica, basicamente por suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade [2]. Portanto, a própolis, por seu reconhecido efeito terapêutico, biodegradabilidade e amplo uso na medicina popular e fitoterapia animal e humana, recebeu particular atenção de nossa equipe.

Para comprovar a hipótese de seu uso como nanocarreador, nossa equipe escolheu a azitromicina como modelo de fármaco a ser encapsulado.

A azitromicina é um antibiótico inibidor da síntese proteica nos microrganismos sensíveis que, ao ligar-se a subunidade ribossomal 50 S, impede a fixação do RNAt ao ribossomo e, acaba por bloquear o aporte de aminoácidos para a síntese proteica [3]. Dessa forma, esse princípio ativo exerce predominantemente uma ação bacteriostática e, em determinadas concentrações ação bactericida [4].

O objetivo desse trabalho foi encapsular a azitromicina em nanopartículas de própolis e avaliar sua atividade antibacteriana.

Materiais e métodos

As nanopartículas de própolis foram preparadas segundo metodologia previamente descrita por Brandão e colaboradores [5]. A partir de um extrato alcoólico de própolis a 2,75% (m/v), previamente filtrado em filtro de nylon de 0,22

micrômetros. Posteriormente, adicionou-se uma solução de azitromicina (0,83 mg/mL) ao extrato. Sob agitação constante de 600 rpm, a mistura (1 mL) foi lentamente gotejada em 5 mL de solução aquosa de álcool polivinílico a 0,3% (m/v).

Para determinar a eficiência de encapsulamento, a dispersão coloidal contendo nanopartículas foi centrifugada à 16300 G (RB5 Sorval Instruments). Quantificou-se a azitromicina livre sobrenadante por espectrometria no ultravioleta-visível em comprimento de onda de 226 nm (NanoDrop Spectrometer Thermo Scientific). A taxa de encapsulamento foi determinada por diferença entre a azitromicina total e livre.

O tamanho médio, o índice de polidispersão e o potencial Zeta das nanopartículas foram determinados por espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer NANO ZS, Malvern Instruments Limited).

A atividade antimicrobiana da azitromicina nanoencapsulada e da azitromicina pura foram determinados *in vitro* em amostras de *Staphylococcus aureus* (estirpe ATCC23273) cultivadas em caldo Mueller Hinton. Para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC) utilizou-se ágar BHI (brainheart-infusion) e, assim determinar a atividade bactericida ou bacteriostática.

Todas as análises laboratoriais foram feitas em triplicata.

Resultados e discussão

As nanopartículas contendo azitromicina apresentaram tamanho médio de 322 nm, índice de polidispersão de 0,26 e potencial Zeta de -15,1 mV. Pode-se observar que a nanoestruturação da própolis proporcionou a formação de uma dispersão coloidal homogênea. Por sua vez, o potencial Zeta com módulo inferior a 30, sugere que a estabilidade do sistema seja mantida por outras forças que não a eletrostática, como por exemplo, interações estéricas.

A partir da análise espectrofotométrica do sobrenadante da dispersão coloidal, aferiu-se uma eficiência de encapsulamento de 57%. A boa taxa de encapsulamento da azitromicina pode ser atribuída à sua baixa solubilidade em água, favorecendo, assim sua retenção no interior da partícula [6].

Quando nanoencapsulada, a azitromicina apresentou atividade antibacteriana discretamente superior à azitromicina livre, respectivamente 16 µg/mL e 32 µg/mL (tabela 1).

Tabela 1: Atividade antimicrobiana (*Staphylococcus aureus*, estirpe ATCC23273) em caldo Mueller Hinton.

	Concentração de azitromicina µg/mL							
	512	256	128	64	32	16	8	4
A	-	-	-	-	-	+	+	+
AP*	-	-	-	-	-	-	+	+
P	-	-	+	+	+	+	+	+

A = azitromicina; AP = azitromicina nanoencapsulada em própolis; P = própolis
* O valor foi calculado em função da concentração de azitromicina nanoencapsulada

Para determinar o efeito bactericida ou bacteriostático dos tratamentos, as respectivas diluições foram plaqueadas em ágar BHI (tabela 2).

Tabela 2: Unidades formadoras de colônia (UFC) em agar BHI de amostras de *Staphylococcus aureus*, ATCC23273.

	UFC nos tubos de origem							
	512	256	128	64	32	16	8	4
A	0	0	0	1	1	3	i	i
AP*	0	0	0	0	0	0	i	i
P	0	0	i	i	i	i	i	i

A = azitromicina; AP = azitromicina nanoencapsulada em própolis; P = própolis
* O valor foi calculado em função da concentração de azitromicina nanoencapsulada
i = incontável

A azitromicina quando utilizada em sua forma pura apresenta atividade bactericida em concentrações iguais ou superiores a 128 µg/mL, observa-se também que o princípio ativo exerce atividade bacteriostática entre as concentrações de 64 µg/mL e 32 µg/mL. Já a azitromicina encapsulada em nanopartículas de própolis apresentou exclusivamente atividade bactericida, em concentrações iguais ou superiores a 16 µg/mL. O aumento do efeito bactericida sugere uma ação sinérgica entre a azitromicina e a própolis, uma vez que a própolis isoladamente necessita de muito mais matéria seca para apresentar tal comportamento.

Conclusões

Conseguiu-se demonstrar que a própolis apresenta grande potencial de uso como material encapsulante, todavia o padrão de liberação da azitromicina ainda não foi determinado. Adicionalmente, a azitromicina demonstrou efeito sinérgico com a própolis, o que pode ser de grande interesse para a indústria

farmacêutica veterinária e humana. Todavia, mais estudos devem ser feitos para otimizar a eficiência de encapsulamento das nanopartículas de própolis.

Agradecimentos

CNPq, FAPEMIG, EMBRAPA, Rede AGRONANO, FINEP e CAPES.

Referências

1. S. R. Schaffazick; A. R. Pohlmann; L.L. Freitas; S. S. Guterres *Acta Farm. Bonaer.* 2002, 21, 99.
2. M. R. Moura; F. A. Aouada; L. H. C. Mattoso, *J. Colloid Interf. Sci.* 2008, 321, 477.
3. B. G. Katzung in *Farmacologia básica e clínica*, AMGH Ed.; Porto Alegre, 2010; Vol. 10.
4. N. R. J. Ferreira, MSc Dissertation, Universidade Federal de Santa Maria, 2007.
5. H. M. Brandão; B. M. M. Vinholis; C. V. Mosqueira; C. H. L. Mattoso; M. A. V. P. Brito; V. R. Sousa; R. N. Barbosa; C. C. Lange.; BR PI 1004808-1, 2010.
6. C. P. Reis; R. J. Neufeld; A. J. Ribeiro; F. Veiga, *Nanomed-Nanotechnol.* 2006, 2, 8.