



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@cnpagl.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.