

DETERMINAÇÃO DO MECANISMO DE DISTRIBUIÇÃO E DE FOTODEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS CO-ENCAPSULADOS EM NANOPARTICULAS

Kelly Ayumi Nakama¹

Renata Bem dos Santos²

Sandra Elisa Haas³

Resumo:

A doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência entre idosos, podendo apresentar perda de funções cognitivas como memória, orientação, atenção e linguagem, consequentemente se tornam incapazes de desenvolverem atividades diárias colocando-se em risco, sendo necessário o auxílio na realização destas atividades. A curcumina (CCM) possui baixa solubilidade e biodisponibilidade, além de serem altamente instáveis quando expostos a luz e a determinadas condições de pH. O meloxicam (MLX) apresenta uma alta permeabilidade intestinal e uma baixa solubilidade aquosa. A nanotecnologia vem sendo utilizada como uma estratégia para melhorar a dissolução, biodisponibilidade, proteger os fármacos de uma possível degradação. O objetivo deste trabalho é avaliar a distribuição dos fármacos nas nanopartículas desenvolvidas através da técnica de ultrafiltração-centrifugação e avaliar a fotoestabilidade e a cinética de degradação da CCM e do MLX livres e encapsulados. Para a avaliação da distribuição foi utilizado o algoritmo proposto por Oliveira e colaboradores (2012), as nanopartículas (NP) foram diluídas em água ultrapurificada e centrifugadas, o ultrafiltrado foi coletado e analisado no Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD), com um método previamente validado. O estudo de fotoestabilidade foi realizado em uma câmara de foto estabilidade UV revestida com espelho, contendo lâmpadas UV, no total foram avaliados 6 grupos (CCM, MLX, CCM + MLX em solução e NP-MLX, P-CCM e NP-CCM + MLX), o experimento durou 12 horas, após as amostras foram analisadas em CLAE-DAD. Na determinação da ordem de reação, foram avaliados os mesmos 6 grupos do estudo de fotoestabilidade, onde a ordem de reação foi determinada com o auxílio do software Micro Math Scientist®. No estudo de distribuição dos fármacos NP-MLX apresentou tipo III de distribuição e NP-CCM apresentou tipo VI. Para a foto-estabilidade, MLX e CCM livres apresentaram 88,4% e 51,9% e o MLM + CCM livre obtem 47,6% e 55,4% de degradação. As NP MLX e CCM apresentaram 9,8% e 25,8% e NP MLX + CCM apresentaram 20,4% e 38,8% de degradação, respectivamente. O MLX e a CCM sozinhos, livres e encapsulados apresentaram uma reação da ordem um, o MLX associado a CCM livre e encapsulado obtem a reação de ordem dois. Foi possível determinar o perfil de distribuição dos fármacos nas diferentes NPs, bem como verificar que as NP são capazes de protegê-los da degradação fotolítica.

Palavras-chave: nanopartículas, cromatografia líquida de alta eficiência, anti-inflamatórios

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

DETERMINAÇÃO DO MECANISMO DE DISTRIBUIÇÃO E DE FOTODEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS CO-ENCAPSULADOS EM NANOPARTICULAS

¹ Aluno de graduação. kellyayumi29@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. bemrenatinha@gmail.com. Co-autor

³ Docente. sandra.haas@gmail.com. Orientador



DETERMINAÇÃO DO MECANISMO DE DISTRIBUIÇÃO E DE FOTODEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS CO-ENCAPSULADOS EM NANOPARTICULAS

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência entre idosos (National Institute on Aging, 2016). Eventualmente os idosos afetados por esta doença tornam-se incapazes de desenvolverem atividades diárias colocando-se em risco e em necessidade de ajuda em todos os aspectos da vida diária (Anand *et al.*, 2014).

O tratamento deve ser gerenciado de maneira individual de acordo com a progressão da doença, com o auxílio de uma equipe multidisciplinar da saúde, serviços sociais e também suporte familiar e financeiro (Lane *et al.*, 2017). O tratamento farmacológico inclui principalmente 5 fármacos (rivastigmina, galantamina, tacrina, donepezil e memantina), os quais são de alto custo e possuem efeitos adversos como hepatotoxicidade, fraqueza muscular, problemas gastrointestinais, cólicas, vômitos e até convulsões (Auld *et al.*, 2002; Lane *et al.*, 2017).

A fisiopatologia da DA ainda é desconhecida, mas envolve muitos componentes inflamatórios. Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) estão sendo estudados como uma terapia emergente para enfrentar a neuroinflamação, pois eles exercem efeitos benéficos através da sua variedade de mecanismos, que vão além da ação sobre as enzimas ciclooxigenases (COX), como a manutenção da homeostase de cálcio, melhoram o crescimento de axônios, a fosforilação da proteína tau e a motilidade dos astrócitos (Lichtenstein *et al.*, 2010).

A CCM possui baixa solubilidade e biodisponibilidade, além de ser altamente instável quando exposta a luz e a determinadas condições de pH (Ansari *et al.*, 2005). O MLX apresenta uma alta permeabilidade intestinal e uma baixa solubilidade aquosa, sendo a dissolução o seu fator limitante para a absorção. Possui biodisponibilidade de 89% porém atinge concentração máxima no plasma após 7-8 horas da administração de uma suspensão oral, ou 5-9 horas para comprimidos (Del-Tacca *et al.*, 2002).

A nanotecnologia vem sendo utilizada, no decorrer dos últimos 30 anos, como uma estratégia promissora para melhorar a dissolução e biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água, além proteger os fármacos da degradação química, fotoquímica ou enzimática, pode ainda diminuir a sua toxicidade e melhorar a sua eficácia, assim como o *delivery* cerebral (Vieira *et al.*, 2016). Isso se deve às características das nanopartículas, pois possuem a habilidade de atravessar seletivas barreiras biológicas, assim como a barreira hematoencefálica (BHE), aumentando a concentração dos compostos nesta região que é de suma importância para o tratamento da DA (Voigt *et al.*, 2014).

O objetivo deste trabalho é avaliar a distribuição dos fármacos nas nanopartículas desenvolvidas através da técnica de ultrafiltração-centrifugação e avaliar a fotoestabilidade e a cinética de degradação da CCM e do MLX livres e encapsulados.

2. METODOLOGIA

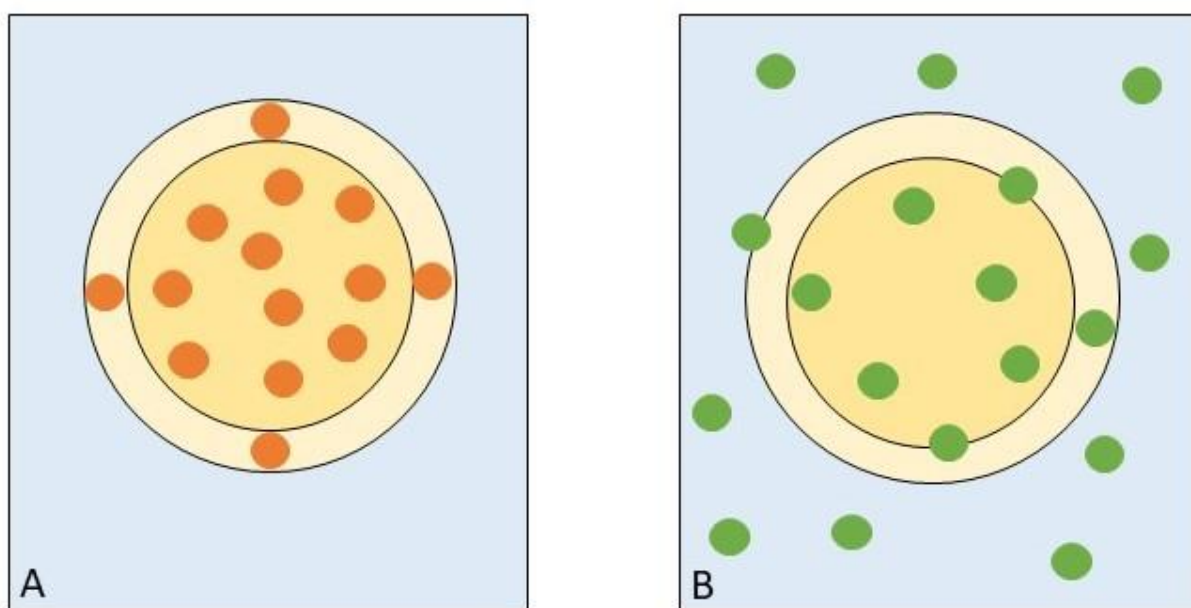
Para a avaliação da distribuição foi utilizado o algoritmo proposto por Oliveira e colaboradores (2012), as nanopartículas (NP) foram diluídas em água ultrapurificada, centrifugadas utilizando filtros Ultrafree® a 5000 rpm por 10 minutos a 4°C, o ultrafiltrado foi coletado e analisado no Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD), com um método previamente validado. O estudo de fotoestabilidade foi realizado em uma câmara de foto estabilidade UV revestida com espelho, contendo lâmpadas UV, no total foram avaliados 6 grupos (CCM, MLX, CCM + MLX em solução e NP-MLX, P-CCM e NP-CCM + MLX), o experimento durou 12 horas e as coletas foram realizadas em intervalos de 1,5 horas, após as amostras foram analisadas em CLAE-DAD. Na determinação da ordem de reação, foram avaliados os mesmos 6 grupos do estudo de fotoestabilidade, onde a ordem de reação foi determinada com o auxílio do software Micro Math Scientist®.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação de distribuição foram realizados e nós seguimos o algoritmo para determinar o tipo de distribuição. Após a diluição 1:100, mais de 50% de MLX foi quantificado, permitindo categorizar identificar o MLX tanto na fase externa quanto na fase interna da nanopartícula. Na fase interna. Essa distribuição ocorre tanto para esta molécula na formulação NP-MLX e NP-CCM+MLX (Figura 1).

No caso do CCM, não foi possível quantificar o fármaco após as inúmeras diluições, mesmo considerando o limite baixo do método analítico desenvolvido previamente por nosso grupo de pesquisa. Como não foi possível quantificar, pode-se deduzir, de acordo com o algoritmo de Oliveira e colaboradores (2013) que a CCM está praticamente toda incorporada na partícula, pouco na fase aquosa da suspensão.

Figura 1. Modelo de distribuição das pseudofases.



A = Curcumina; B = Meloxicam

Nos estudos de fotodegradação, as concentrações de MLX e CCM remanescentes nas amostras irradiadas a partir da concentração inicial foram avaliadas quantitativamente através de CLAE-DAD. O MLX e CCM livres

apresentaram valores próximos a 90% e 50%, MLX + CCM livre apresentaram 50% e 55% de degradação. As NP de MLX e CCM apresentaram 10% e 25% e MLX + CCM apresentaram 20% e 40% de degradação respectivamente. Observa-se que as NP foram capazes de reduzir a porcentagem de degradação dos fármacos, melhorando a foto estabilidade deles.

Sabe-se que o aumento da estabilidade dos fármacos quando em NCLs pode ser explicado pela estrutura coloidal que restringe a exposição do fármaco com a fase externa, mas também devido à presença do núcleo oleoso, visto que alguns óleos apresentam propriedades antioxidantes. Logo, se há uma menor distribuição no núcleo da NCLs, pode haver uma menor proteção.

A partir dos resultados obtidos do ensaio de fotoestabilidade, com os resultados das porcentagens de degradação em função do tempo, foi possível determinar a cinética de fotodegradação e a ordem de reação dos compostos. Os resultados obtidos sugerem que a cinética de reação que melhor descreve a fotodegradação do MLX, tanto livre quanto na formulação NLC-M, é a reação de ordem um. Observa-se uma velocidade de reação menor para o MLX encapsulado comparando com o MLX livre e um tempo de meia vida maior, demonstrando um aumento considerável e significativo ($p < 0,05$) da fotoestabilidade deste fármaco quando nanoencapsulado sozinho.

Para o MLX+CCM, os resultados sugerem que a cinética de reação que melhor descreve estas fotodegradações, tanto livre quanto em NP, é a reação de ordem dois, sendo a velocidade de reação proporcional à concentração de dois reagentes. Este aumento da fotoestabilidade considerável ($p < 0,05$) e mudança na cinética de degradação pode ser explicada devido ao possível mecanismo de proteção conferido pela CCM, Coradini *et al.* (2014) explicam que isto pode ter ocorrido devido à CCM possuir ação antioxidante, protegendo o fármaco da ação de radicais livres.

A CCM segue a reação de monordem, do mesmo modo observa-se uma proteção quando encapsulada em comparação com a livre (CCM) ($p < 0,05$). A constante de velocidade de reação diminui para o grupo CCM e NLC-C, e o tempo de meia vida foi vezes maior quando o ativo foi nanocarreado. As alterações da CCM em associação comparando com ela unicamente encapsulada não foram significativas, ou seja, a associação com o MLX não protege e nem acelera a degradação da CCM.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível determinar o perfil de distribuição dos fármacos nas diferentes NPs, bem como verificar que as NP são capazes de protege-los da degradação fotolítica. Assim, esses sistemas mostram-se como bastante promissores para a DA.

5. REFERÊNCIAS

ANAND, R.; GILL, K. D.; MAHDI, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. **Neuropharmacology**, v. 76 Pt A, p. 27-50, Jan 2014.

ANSARI, M. J.; AHMAD, S.; KOHLI, K.; ALI, J.; KHAR, R. K. Stability-indicating HPTLC determination of curcumin in bulk drug and pharmaceutical formulations. **J Pharm Biomed Anal**, v. 39, n. 1-2, p. 132-8, Sep 1 2005.

AULD, D. S.; KORNECOOK, T. J.; BASTIANETTO, S.; QUIRION, R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to beta-amyloid

peptides, cognition, and treatment strategies. **Prog Neurobiol**, v. 68, n. 3, p. 209-45, Oct 2002.

DEL-TACCA, M.; COLUCCI, R.; FORNAI, M.; BLANDIZZI, C. Efficacy and tolerability of meloxicam, a COX-2 preferential nonsteroidal antiinflammatory drug: a review. **Clin. Drug Invest**, v. 22, p. 799-818, 2002.

LANE, A. C.; HARDY, J.; SCHOTT, M. J. Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, Accepted manuscript online: 4 Sep 2017.

LICHTENSTEIN, M. P.; CARRIBA, P.; BALTRONS, M. A.; WOJCIAK-STOTHARD, B.; PETERSON, J. R.; GARCIA, A. Secretase-independent and RhoGTPase/PAK/ERK-dependent regulation of cytoskeleton dynamics in astrocytes by NSAIDs and derivatives. **J Alzheimers Dis**, v. 22, p. 1135-1155, 2010.

MISHRA, S.; PALANIVELU, K. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview. **Ann Indian Acad Neurol**, v. 11, p. 13-19, 2008.

National Institute On Aging. ALZHEIMER'S DISEASE AND RELATED DEMENTIAS: Alzheimer's Disease Fact Sheet [internet]. Department of Health & Human Services [Acesso em 23/09/2017]. Disponível em: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet>

OLIVEIRA, C. P.; VENTURINI, C. G.; DONIDA, B.; POLETTO, F. S.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. An algorithm to determine the mechanism of drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations. **Soft Matter**, v. 9, p. 1141, 2012.

PARDEIKE, J.; MULLER, R. H. Nanosuspensions: a promising formulation for the new phospholipase A2 inhibitor PX-18. **Int J Pharm**, v. 391, n. 1-2, p. 322-9, May 31 2010.

VIEIRA, S. M.; MICHELS, L. R.; ROVERSI, K.; METZ, V. G.; MORAES, B. K.; PIEGAS, E. M.; FREDDO, R. J.; GUNDEL, A.; COSTA, T. D.; BURGER, M. E.; COLOME, L. M.; HAAS, S. E. A surface modification of clozapine-loaded nanocapsules improves their efficacy: A study of formulation development and biological assessment. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 145, p. 748-756, May 25 2016.

VOIGT, N.; HENRICH-NOACK, P.; KOCKENTIEDT, S.; HINTZ, W.; TOMAS, J.; SABEL, B. A. Surfactants, not size or zeta-potential influence blood-brain barrier passage of polymeric nanoparticles. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 87, n. 1, p. 19-29, May 2014.