

NANOCÁPSULAS DE POLI-EPSILON CAPROLACTONA CO-ENCAPSULANDO METRONIDAZOL E ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosmarinus officinalis*

Pedro Santos da Silva ¹

Luiz Torres Neto ²

Gabriel Pedroso Viçozzi ³

Riciele Moreira de Moraes ⁴

Letícia Marques Colomé ⁵

Eduardo André Bender ⁶

Resumo:

A giardíase, causada pelo protozoário *Giardia lamblia*, na maioria dos estados do Brasil, apresenta-se prevalente em 20% de escolares e pré-escolares. A contaminação por este parasita ocorre através da contaminação fecal-oral, onde está parasitose pode ocasionar déficit cognitivo, de crescimento e comprometimento do estado nutricional. Quando em crianças, temos como consequência a má-absorção de açúcares, gorduras, vitaminas A, D, E, K, B12, ácido fólico, ferro e zinco. Dentre as possíveis terapias medicamentosas envolvendo giardíase se inclui drogas como metronidazol, furazolidona, paromomicina, benzimidazóis, que podem produzir efeitos colaterais junto da resistência que o protozoário patogênico apresenta a alguns deles. Seu tratamento é longo, assim prejudicando a adesão em alguns grupos populacionais. Logo, novas abordagens terapêuticas se tornam bastante interessantes. Nesse sentido, pode-se destacar os nanosistemas carreadores de fármacos. As nanocápsulas, pertencentes ao grupo das nanopartículas, possuem um núcleo oleoso envolto por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode estar dissolvido no núcleo ou adsorvido na parede polimérica. Dessa forma, auxilia no controle de liberação do fármaco além de reduzir o potencial tóxico, aumenta biodisponibilidade e índice terapêutico além de poder reduzir os efeitos colaterais. O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é uma das plantas medicinais mais utilizadas e documentadas no mundo. Por esta razão o seus extratos e óleos essenciais exibem muitos efeitos benéficos à saúde como antioxidante, antimicrobianos, anticancerígenos, anti-inflamatórias, incluindo atividade antiprotozoária. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de nanocápsulas de metronidazol co-encapsulado com óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* como uma nova abordagem a terapêutica antiprotozoária. A suspensão de nanocápsulas de metronidazol (NCM) foram preparadas utilizando o método denominado deposição interfacial do polímero pré-formado. O tamanho de partícula foi avaliado pela técnica de difratometria de laser (DL) utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments). O diâmetro de partícula e o índice de polidispersão (PDI) foi obtido por espalhamento dinâmico de luz (DLS) (NanoBrook 90Plus Zeta®). A determinação de pH foi realizada com potenciômetro (Hanna®). A NCM apresentou um diâmetro de partícula e polidispersão satisfatórios. Temos a perspectiva de realização de mais análises, como estabilidade, eficiência de encapsulação do fármaco e ainda avaliação do perfil de liberação a partir da nanoestrutura.

Palavras-chave: Alecrim; Metronidazol; Nanocápsulas; POLI-EPSILON CAPROLACTONA

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

**NANOCÁPSULAS DE POLI-EPSILON CAPROLACTONA CO-ENCAPSULANDO METRONIDAZOL E ÓLEO
ESSENCIAL DE *Rosmarinus officinalis***

¹ Aluno de graduação. pedraossilva12@gmail.com. Autor principal

² Aluno de Pós-Graduação. torresneto1995@gmail.com. Co-autor

³ Aluno de Pós-Graduação. gabrie.vicozzi@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de Graduação. riclemoreira@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. leticiacolome@unipampa.edu.br. Co-autor

⁶ Docente. eduardobender@unipampa.edu.br. Orientador

NANOCÁPSULAS DE POLI-EPSILON CAPROLACTONA CO-ENCAPSULANDO METRONIDAZOL E ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosmarinus officinalis*

1 INTRODUÇÃO

Infecções causadas por parasitas intestinais apresentam-se como um grave problema de saúde pública no mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as parasitoses configuram um cenário de 2 a 3 milhões de óbitos por ano em todo o mundo, podendo citar a ascaridíase, giardíase, amebíase, malária e leishmanias como as parasitoses mais frequentes, sendo as crianças o grupo de risco mais afetado (WHO, 1990; ESCOBEDO, et al., 2007).

A giardíase, causada pelo protozoário *Giardia lamblia*, na maioria dos estados do Brasil, apresenta-se prevalente em 20% de escolares e pré-escolares. A contaminação por este parasita ocorre através da contaminação fecal-oral, onde está parasitose pode ocasionar déficit cognitivo, de crescimento e comprometimento do estado nutricional. Quando em crianças, temos como consequência a má-absorção de açúcares, gorduras, vitaminas A, D, E, K, B12, ácido fólico, ferro e zinco (FERREIRA *et al.*, 2002; MELO *et al.*, 2004).

Dentre as possíveis terapias medicamentosas envolvendo giardíase se inclui drogas como metronidazol, furazolidona, paromomicina, benzimidazóis, que podem produzir efeitos colaterais junto da resistência que o protozoário patogênico apresenta a alguns deles. Seu tratamento é longo, assim prejudicando a adesão em alguns grupos populacionais. Logo, novas abordagens terapêuticas se tornam bastante interessantes. Nesse sentido, pode-se destacar os nanosistemas carreadores de fármacos (GUERRANT *et al.*, 1999; LIU *et al.*, 2000; GARDNER *et al.*, 2001).

As nanocápsulas, pertencentes ao grupo das nanopartículas, possuem um núcleo oleoso envolto por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode estar dissolvido no núcleo ou adsorvido na parede polimérica. Dessa forma, auxilia no controle de liberação do fármaco além de reduzir o potencial tóxico, aumenta biodisponibilidade e índice terapêutico al[em de poder reduzir os efeitos colaterais (LIU *et al.*, 2011).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é uma das plantas medicinais mais utilizadas e documentadas no mundo (SELMÍ *et al.*, 2017). Por esta razão o seus extratos e óleos essenciais exibem muitos efeitos benéficos à saúde como antioxidante (GÜLLÜCE *et al.*, 2003), antimicrobianos (VALERO *et al.*, 2003), anticancerígenos (BERRINGTON *et al.*, 2012), anti-inflamatórias (TAKAKI *et al.*, 2008), incluindo atividade antiprotozoária (ELBADR *et al.*, 2013).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de nanocápsulas de metronidazol co-encapsulado com óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* como uma nova abordagem a terapêutica antiprotozoária.

2 METODOLOGIA

2.1 Preparação das nanocápsulas

A suspensão de nanocápsulas de metronidazol (NCM) foram preparadas utilizando o método denominado deposição interfacial do polímero pré-formado por Fessi *et al.*, (1989). A fase orgânica foi composta por poli(ϵ -caprolactona) (PCL), óleo essencial de alecrim como núcleo lipídico, tensoativo de baixo EHL monoestearato de sorbitano (Span 60), metronidazol e acetona. Os componentes foram aquecidos a 40 °C em banho eletrostático para completa dissolução de todos os componentes.

A fase aquosa foi composta por água ultrapura e tensoativo de elevado EHL (polissorbato 80), sendo também mantido por agitação magnética em banho eletrostático sob as mesmas condições de tempo e temperatura. Posteriormente a fase orgânica foi vertida, lentamente sob agitação moderada, através de um funil na fase aquosa, para formação das nanocápsulas, sendo sua agitação mantida por 10 minutos. Por fim, a solução foi concentrada a um volume final de 10 mL em evaporador rotatório, para eliminação do solvente orgânico e parte da água. Posteriormente as suspensões foram armazenadas em frascos âmbar, em temperatura ambiente, protegido da luz.

2.2 Caracterização da suspensão de nanocápsulas

O tamanho de partícula foi avaliado pela técnica de difratometria de laser (DL) utilizando o equipamento Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments). Os dados de difração de laser obtidos foram avaliados utilizando o valor $D_{[4,3]}$, junto dos valores de $d_{(0,1)}$, $d_{(0,5)}$ e $d_{(0,9)}$. O gráfico radar proposto por Bianchin *et al.*, (2015), foi utilizado para a representação dos dados, sendo utilizada a distribuição por número e por volume. O valor de polidispersão (Span) também foi utilizado para a caracterização das formulações (Equação 1).

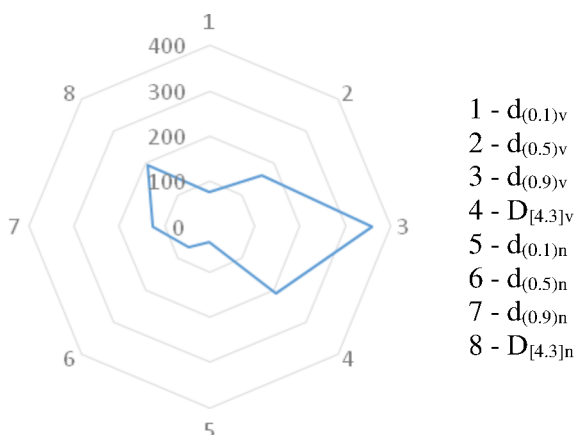
$$SPAN = \frac{(d_{0.9} - d_{0.1})}{d_{0.5}} \quad Eq. 1$$

O diâmetro de partícula e o índice de polidispersão (PDI) foi obtido por espalhamento dinâmico de luz (DLS), medido a 25°C utilizando o equipamento NanoBrook 90Plus Zeta® (Brookhaven Instruments Corporation, USA).

A determinação de pH foi realizada com potenciômetro (Hanna®) calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0 diretamente nas formulações de nanocápsulas. Todos os resultados das análises foram representados pela média de três determinações $\pm$ DP.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Figura 1. Gráfico radar da suspensão de NCM (nm).



Fonte: do autor, 2018.

O tamanho médio de partícula da suspensão de NCM se encontra na tabela 1. Na figura 1 é apresentada a distribuição pelo gráfico radar, este considera as diferentes variáveis

determinadas por DL, onde os eixos 1 a 4 correspondem aos dados relacionados ao volume das partículas: $d_{(0.1)v}$, $d_{(0.5)v}$, $d_{(0.9)v}$, e $D_{[4.3]v}$ enquanto os eixos 5 a 8 correspondem aos dados com base no número de partículas: $d_{(0.1)n}$, $d_{(0.5)n}$, $d_{(0.9)n}$ e $D_{[4.3]n}$.). O diâmetro médio ($d_{0.5}$) e o volume globular médio ($D_{[4.3]}$) apresentaram valores de $161,66 \pm 3,30$ nm e $207,33 \pm 17,44$ nm, respectivamente, estando dentro da escala nanométrica. Além disso, foi observado que as nanocápsulas apresentavam formato padrão pela proximidade dos valores. A suspensão apresentou um Span de $1,739 \pm 0,06$, apresentando certo grau de polidispersividade o que justifica o formato assimétrico do gráfico.

Tabela 1. Diâmetro e volume de partículas obtidos por difratometria de laser (DL).

	$D_{[4.3]}$	$d_{(0.5)}$	Span
NCI	$207,33 \pm 17,44$	$161,66 \pm 3,30$	$1,739 \pm 0,06$

Fonte: do autor, 2018.

Como técnica alternativa ao DL, o espalhamento dinâmico de luz (DLS) também foi utilizado para caracterização da suspensão NCM. Este é um método mais específico para partículas nanométricas. Os dados encontrados por esta análise foram semelhantes com os encontrados por DL. O diâmetro médio da suspensão foi de $252,8 \pm 7,32$ nm, com uma polidispersão $0,144 \pm 0,01$, comprovando que a suspensão é homogênea e monodispersa.

Tabela 2. Valores de Diâmetro Médio de partícula (Zeta Average), Índice de Polidispersão (PDI) obtidos por (DLS) e medidas de pH.

	Diâmetro médio (nm)	IPD	pH
NCM	$252,8 \pm 7,32$	$0,144 \pm 0,01$	$6,88 \pm 0,04$

Fonte: do autor, 2018.

Na literatura são encontrados outros trabalhos utilizando óleos essenciais como núcleo lipídico no desenvolvimento de nanocápsulas. Entre estes, Pinto *et al.*, (2016) desenvolveu nanocápsulas com óleo essencial de *Lippia sidoides* utilizando PCL como polímero de revestimento. Avaliando o tamanho por DLS obteve o diâmetro médio variando de 153 a 443 nm e um PDI abaixo de 0,20. Outro trabalho realizado por Bradi *et al.*, (2018) co-encapsulou indometacina com óleo essencial de *Nigella Sativa*. Este demonstrou diâmetros semelhantes ao nosso trabalho, obtendo um diâmetro médio entre 230 a 260 nm. Christofoli *et al.*, (2015) desenvolveu nanocápsulas de *Zanthoxylum rhoifolium* utilizando PCL, apresentando um diâmetro médio variando de 451,9 a 464,6 nm. Essa variabilidade é justificada por Schaffazick *et al.*, (2007), onde relata que o tipo de fase oleosa utilizada como núcleo na preparação de NC tem grande influência no tamanho médio das partículas e no índice de polidispersão devido à diferença em sua viscosidade, característica hidrofóbica e tensão interfacial.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A NCM apresentou um diâmetro de partícula e polidispersão satisfatórios. Temos a perspectiva de realização de mais análises, como estabilidade, eficiência de encapsulação do fármaco e ainda avaliação do perfil de liberação a partir da nanoestrutura.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, ao Programa de Auxílio à Pós-Graduação (PAPG/UNIPAMPA) e ao Programa de Desenvolvimento Acadêmico da UNIPAMPA (PDA 2018) pelo fornecimento das bolsas de Estudo

REFERÊNCIAS

- BADRI, A. W.; ASBAHANI, E.; MILADI, K.; BARAKET, A.; AGUSTI, G.; NAZARI, Q. A.; ERRACHID, A.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Co-delivery poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles loaded with indomethacin and *Nigella Sativa* L. essential oil: Inflammation topical enhanced treatment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 46, p. 234-242, 2018.
- BERRINGTON, D.; LALL, N. Anticancer activity of certain herbs and spices on the cervical epithelial carcinoma (HeLa) cell line. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012.
- CHRISTOFOLI, M.; COSTA, E. C. C.; BICALHOC, K. U.; DOMINGUES, V. C.; PEIXOTO, M. F.; ALVES, C. C. F.; ARAÚJO, W. L.; CAZAL C. M. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 301–308, 2015.
- ELBADR, M.; ABDUL. RAOUF, U. M.; ABO- DAHAB, N. F.; SALAH, D.R.; BADR, G. A. Antiprotozoal activity of *Rosmarinus officinalis* and *Ocimum basilicum* against *Giardia lamblia*. **Egyptian Veterinary Medical Society of Parasitology Journal**, v. 9, 2013
- ESCOBEDO, A. A.; CIMERMAN, S. Giardiasis: a pharmacotherapy review. **Journal Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 8, n. 12, 2007.
- FERREIRA, H. S.; ASSUNCAO, M. L.; VASCONCELOS, V. S. et al. Saúde de populações marginalizadas: desnutrição, anemia e enteroparasitoses em crianças de uma favela do "Movimento dos Sem Teto", Maceió, Alagoas. **Revista Brasileira Saúde Materno Infantil**, v. 2, n. 2, p. 177-185, 2002.
- FESSI, H.; DEVISSAGUET, J; PUISIEUX, F. Procédé de préparation des systèmes colloïdaux dispersibles d'une substance sous forme de nanocapsules. **European Patent**, 0274961 A1, 1989.
- GARDNER, T.B.; HILL, D.R. Treatment of giardiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, p. 114-128, 2001.
- GUERRANT, R. L.; WALKER, D. H.; WELLER, P. F. Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens & Practice. Churchill Livingstone, **Philadelphia**, v. 1, p. 685-697, 1999.
- GÜLLÜCE, M.; SÖKMEN, M.; DAFERERA, D.; AĞAR, G.; OZKA, H.; KARTAL, N.; POLISSIOU, M.; SÖKMEN, A.; SAHIN, F. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3958–3965, 2003.
- LIU, Y.; ZHANG, B.; YAN, B. Enabling Anticancer Therapeutics by Nanoparticle Carriers: The Delivery of Paclitaxel. **International Journal of Molecular Science**, v. 12, p. 4395-4413, 2011.
- MELO, M. C. B.; KLEM, V. G. Q.; MOTA, J. A. C.; PENNA, F. J. Parasitoses Intestinais. **Revista Medicina Minas Gerais**, v. 14, n. 1, p. 3-12, 2004.
- PINTO, N. O. F.; RODRIGUES, T. H. S.; PEREIRA, R. C. A.; SILVA, L. M. A.; CÁCERES, C. A.; AZEREDO, H. M. C.; MUNIZ, C. R.; BRITO, E. S.; CANUTO, K. M. Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 279–288, 2016.
- SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Nanocapsules, nanoemulsion and nanodispersion containing melatonin: preparation, characterization and

stability evaluation. **Die Pharmazie (Berlin)**, v. 62, p. 354-360, 2007.

SELMİ S.; RTİBİ K.; GRAMI, D.; SEBAI, H.; MARZOUKI L. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil components exhibit anti-hyperglycemic, anti-hyperlipidemic and antioxidant effects in experimental diabetes, **Pathophysiology**, v. 24, p. 297-303, 2017.

TAKAKI, I.; BERSANI-AMADO, L. E.; VENDRUSCOLO, A.; SARTORETTO, S. M.; DINIZ, S. P.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. Anti-Inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L: essential oil in experimental animal models, **Journal of Medicinal Food**, v. 11, p. 741–746, 2008.

VALERO, M.; SALMERÓN, M. C. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. **International Journal of Food Microbiology**, v. 85, p. 73–81, 2003.

WHO. **Informal consultation on intestinal helminth infections**. WHO/CDS/IPI/90.1, 1990