

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO BENZNIDAZOL E β -CARBOLÍNICO

Julia Gasparino de Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Danielle Lazarin-Bidóia,
Elizandra Aparecida Britta, Celso Vataru Nakamura (Orientador), e-mail:
juliaogasparino@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde/Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Farmácia

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas, nanopartículas,
benzonidazol, β -carbolínico.

Resumo:

A doença de Chagas é uma doença negligenciada que atinge milhões de pessoas, especialmente no continente americano. É causada pelo agente etiológico *Trypanosoma cruzi*, que pertence à família Trypanosomatidae. A doença pode ser transmitida através de um vetor triatomíneo popularmente conhecido como barbeiro. O tratamento é limitado, visto que apenas os fármacos benzonidazol e nifurtimox estão disponíveis no mercado, porém ambos apresentam alta citotoxicidade e efeitos colaterais. Assim, novas técnicas estão sendo exploradas como alternativa para o tratamento da doença de Chagas, como a utilização de novos compostos ativos, a associação entre substâncias ativas juntamente com outras drogas e a utilização de micro/nanotecnologia. Considerando esses aspectos, o objetivo desse projeto foi desenvolver e caracterizar nanopartículas para encapsular benzonidazol associado à β -carbolínico e avaliar atividade frente às diversas formas de *T. cruzi*, de forma a acrescentar no tratamento já existente.

Introdução

A doença de Chagas é de característica endêmica e afeta cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no continente americano, sendo a doença parasitária de maior mortalidade na região em comparação a outras doenças parasitárias. É uma doença negligenciada, por atingir as comunidades mais carentes (WHO, 2017). Existem diferentes formas pelas quais a doença de Chagas pode ser transmitida, sendo que a principal é através da transmissão por um vetor. Os insetos transmissores da doença pertencem a Ordem Hemiptera, Família Reduviidae, Sub-Família Triatominae, e gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma*. São popularmente chamados de barbeiros (MOMEN, 1999; COURA, 2007). O *T. cruzi* apresenta três formas distintas em seu ciclo biológico: epimastigota, tripomastigota e amastigota.

O tratamento disponível para esta enfermidade são os medicamentos Benzonidazol (Rochagan®) e Nifurtimox (Lampit®). Ainda que efetivos na

fase aguda, não apresentam resultados satisfatórios na fase crônica da doença, além de serem tóxicos para o hospedeiro mamífero (NEVES, D.P., 2004). Além disto, ambos compostos utilizados apresentam sérios efeitos colaterais, levando por vezes à suspensão ou ao abandono do tratamento (WHO, 2017).

Portanto, novas estratégias estão sendo exploradas para aperfeiçoar o tratamento, como a descoberta de novos compostos ativos e a utilização de compostos ativos associados a outras drogas, juntamente com a utilização de micro e nanopartículas (STRECK et al., 2011),

Os β -carbolínicos, que são comuns na natureza, podem ser isolados a partir de fungos, plantas, organismos marinhos, mamíferos, e têm mostrado uma boa atividade contra *T. cruzi* (Rivas et al., 1999). β -carbolínicos naturais, sintéticos, e alcalóides tetra-hidro- β -carbolínicos são compostos conhecidos que possuem diversas propriedades biológicas, tais como propriedade anti-convulsiva, ansiolítica, sedativa, antimicrobiana, anti-trombótica, anti-HIV, anti-proliferativa, inseticida, e parasiticida (Takasu et al., 2004;. Costa et al., 2006).

O objetivo desse trabalho foi produzir nanopartículas a partir dos copolímeros PEO(5000) - PLA(10000) para a encapsulação, contendo tetra-hidro- β -carbolínico N-butil-1-(4-dimetilamino)fenil-1,2,3,4-tetra-hidro- β -carbolínico-3-carboxamida (C4) associado a benznidazol (BZ).

Materiais e métodos

As nanopartículas foram preparadas pela técnica de nanoprecipitação, seguida evaporação do solvente por rota evaporador. Uma solução orgânica foi preparada com 25 mg do copolímero em bloco em 5 mL de acetona, resultando numa solução de concentração de 5 mg/mL. A solução foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente até completa solubilização do copolímero. Em sequência, a solução foi gotejada, com taxa de gotejamento controlada (5.08 mL/h), sobre água Milli-Q®(18.2 Ω .cm) em agitação magnética constante de 750 rpm. Depois, a solução foi colocada em rota evaporador para a eliminação do solvente orgânico (acetona). Tendo obtido a suspensão de nanopartículas vazias, foram encapsuladas as duas substâncias ativas, o benznidazol e o β -carbolínico, na concentração de 1 mg/mL de cada substância, como descrito acima.

Para a caracterização, foi determinado o tamanho médio das nanopartículas por espalhamento de luz (DLS), potencial zeta (ζ) e índice de polidispersão por NanoPlus DLS Nano Particle Size and Zeta Potential Analyzer. Para a análise foi utilizado 2 mL da suspensão de nanopartículas (em diluições previamente estimadas) e com temperatura constante de 25,0 \pm 0,1 °C.

Resultados e Discussão

Os resultados para as suspensões de nanopartículas são mostrados na Tabela 01 e Figura 01. O diâmetro médio das nanopartículas das substâncias C4 + benznidazol em copolímero PEO(5000)-PLA(10000) foi de 37,39 \pm 0,65 nm, com um PDI de 0,187 \pm 0,001 e ζ de 3,27 \pm 0,15. Em

relação as nanopartículas contendo apenas o copolímero PEO(5000)-PLA(10000) o diâmetro médio foi de $41,99 \pm 1,34$ nm, com um PDI de $0,312 \pm 0,016$ e ζ de $-3,66 \pm 0,99$. Os valores de PDI apresentados demonstram que estas suspensões contendo as substâncias C4 + benznidazol possuem perfil monomodal, visto que foram menores que 0,3. De acordo com Souza et al. PDI inferiores a 0,2 denotam uma faixa estreita em seu tamanho o que mostra homogeneidade. Isso significa que estas suspensões possuem alta homogeneidade de nanopartículas, o que indica estabilidade.

Tabela 01: Diâmetro médio (nm), índice de polidispersão (PDI), e potencial zeta (ζ) da suspensão de nanopartículas a base de copolímero PEO(5000)-PLA(10000) contendo as substâncias **C4 + Benznidazol** (NPs + C4 + Bz) e contendo apenas o copolímero (NPs).

Parâmetros	NPs + C4 + Bz	NPs
Diâmetro médio (nm)	$37,29 \pm 0,65$	$41,99 \pm 1,34$
Índice de polidispersão	$0,187 \pm 0,001$	$0,312 \pm 0,016$
Potencial zeta (mV)	$3,27 \pm 0,15$	$-3,66 \pm 0,99$

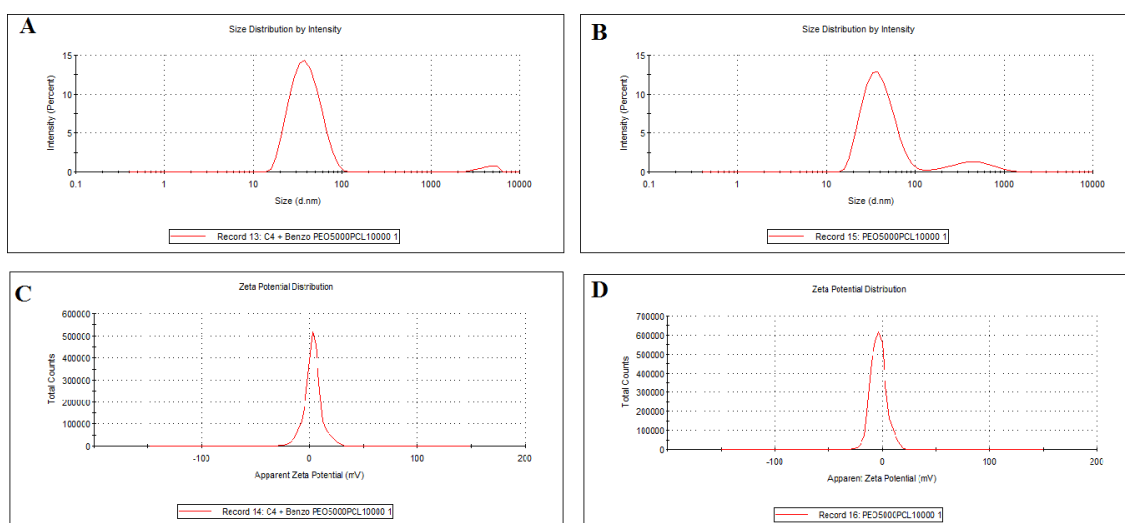


Figura 01: Perfil de distribuição do tamanho e do potencial zeta das suspensões de nanopartículas carregadas com **C4 + Bz**. Distribuição do tamanho de nanopartículas com **C4 + Bz** (A) e do potencial zeta (B). Distribuição do tamanho de nanopartículas apenas com o copolímero PEO(5000)-PLA(10000) (C) e do potencial zeta (D).

Conclusões

Pode-se concluir que foi possível a obtenção de nanopartículas a partir do copolímero PEO(5000)-PLA(10000), sendo possível sua utilização para encapsulação do tetra-hidro- β -carbólico N-butil-1-(4-dimetilamino)fenil-1,2,3,4-tetra-hidro- β -carbólico-3-carboxamida associado a benznidazol.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela concessão da bolsa, ao laboratório Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos e a Universidade Estadual de Maringá.

Referências

COSTA, Emmanoel V. et al. A Pyrimidine- β -carboline and Other Alkaloids from *Annona foetida* with Antileishmanial Activity. **Journal of natural products**, v. 69, n. 2, p. 292-294, 2006.

COURA, J. R. Origem, determinantes e morbidade da Doença de Chagas. **Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud**, v. 11, n. 1, p. 62-66, 2007.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. p. 85 - 108.

RIVAS, Pilar et al. Effects of some β -carboline alkaloids on intact *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 122, n. 1, p. 27-31, 1999.

DE SOUZA, W. O parasito e sua interação com os hospedeiros. In: BRENER, Z.;

SOUZA, P. M. S. et al. "Development of nanocapsules of poly- ϵ -caprolactone containing herbicide atrazine." *Química Nova* 35.1 (2012): 132-137.

WHO. Chagas disease (American trypanosomiasis) :OMS; 2017 [acesso em 18 julho 2017]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>

MOMEN, H. Taxonomy of *Trypanosoma cruzi*: a commentary on characterization and nomenclature. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 1, p. 181-184, 1994.

STRECK, Leticia et al. Validação de método analítico por espectrofotometria UV para sistema emulsionado lipídico contendo benzimidazol. **Química Nova**, p. 1459-1463, 2011.

TAKASU, Kiyosei et al. π -Delocalized β -carbolinium cations as potential antimalarials. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 14, n. 7, p. 1689-1692, 2004.