

Síntese e caracterização de nanocápsulas de sílica mesoporosas contendo o fármaco Nafcilina

Synthesis and characterization of mesoporous silica nanocapsules containing the drug Nafcillin

RESUMO

As resistências bacterianas, causadoras de milhares de mortes por ano, induzem a realização de pesquisas com o intuito de aperfeiçoamento de antibióticos. Este estudo teve como objetivo melhorar a estabilidade do fármaco nafcilina por meio do encapsulamento deste em sílica. A sílica por sua vez é um composto estável e inerte não prejudicando assim o metabolismo humano. Através de espectroscopia na região do infravermelho e espalhamento de luz dinâmico, comprovaram que a nafcilina foi efetivamente encapsulada na sílica de dimensão nanométrica. Os resultados dos ensaios de liberação indicaram que as drogas tiveram uma liberação controlada e com duração de quatro dias. Já os dados provenientes do ensaio de toxicidade revelaram que as nanocápsulas de nafcilina não obtiveram toxicidade superior à do fármaco puro.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas. Antibiótico. Liberação de fármacos. Sílica.

Ariany Nichele Dos Santos

Ariany_nicheli@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Renata Mello Giona

renatam@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

Bacterial resistances cause thousands of deaths per year, thus lead to innumeral research efforts aiming to improve antibiotics. This study aimed to improve the stability of the nafcillin drug by means of the encapsulation with silica. Silica in turn is a stable and inert compound thus not damaging human metabolism. By means of infrared spectroscopy and dynamic light scattering it was concluded that nafcillin was effectively encapsulated and the diameter of its capsules is nanometric. The release test was carried out where the drugs had a controlled release lasting four days. The toxicity test concluded that nafcillin nanocapsules had toxicity comparable to the pure drug.

KEYWORDS: Nanoparticles. Antibiotic. Drug Delivery. Silica.

INTRODUÇÃO

Avnir e colaboradores foram os primeiros a estudarem a incorporação de materiais orgânicos dentro da porosidade interna de materiais inorgânicos, como a sílica amorfa (SiO₂), por exemplo, o que abriu possibilidades para novos métodos de aplicações em diversas áreas da química, sendo a mais beneficiada a bioquímica. Em linhas gerais, as moléculas orgânicas são confinadas nas porosidades internas de uma matriz embasada em sílica que é o material inerte. Essas “jaulas” de sílica aumentam a estabilidade tanto física quanto química dos

compostos nela aprisionados. Por meio dessas, é possível ter uma liberação controlada, sendo útil para incorporar e isolar moléculas que não funcionariam sem encapsulamento ou que teriam sua estabilidade prejudicada. Sendo assim, essa tecnologia é usada principalmente com a finalidade de proteção e liberação controlada (Ciriminna et al. 2011).

A liberação controlada de fármacos tem recebido bastante atenção dos pesquisadores nos últimos anos já que esses materiais são capazes de otimizar a velocidade com que esses fármacos são disponibilizados. Dentre esses, destacam-se as nanopartículas, pois podem apresentar uma maior potencialidade terapêutica, maior estabilidade nos fluídos biológicos e durante o armazenamento (Schaffazick et al. 2003), elevada capacidade de carga transportada e possibilidade de integrar substâncias hidrofílicas e hidrofóbicas simultaneamente (Irache et al. 2011). Também possuem sua escala de tamanho semelhante à de moléculas biológicas (Wiesenthal et al. 2011), o que lhe permite melhor infiltração no organismo.

A nafcilina (Figura 1) é um antibiótico utilizado para o combate de bactérias Gram-positivas causadoras de infecções, especificamente espécies de *Staphylococcus* que são geralmente resistentes a outros fármacos. Também pode ser prescrito para pneumonia e meningite (López et al. 2015). Com o uso da nafcilina de forma errônea pode-se agravar o quadro de infecções e fortalecer o bacilo permitindo a resistência ao medicamento. Também há a possibilidade de falha do tratamento convencional de forma a acentuar e prolongar a enfermidade. Por conta dessa resistência, os pesquisadores para aprimorar os medicamentos estão desenvolvendo materiais alternativos como forma de solução (Capeletti et al. 2014). As nanopartículas de sílica mesoporosas (MSN) vem sendo alvo de intensas pesquisas, pois possibilita ajustar de melhor forma o encapsulamento de agentes antitumorais, marcadores e proteínas. Diante disso, neste trabalho sintetizou-se e caracterizou-se nanocápsulas de sílica mesoporosas contendo o fármaco nafcilina visando avaliar a melhora na sua estabilidade e o perfil de liberação controlada do fármaco.

MATERIAL E MÉTODOS

Em um erlenmeyer, foi adicionado uma solução etanólica do fármaco nafcilina. Em seguida, foi acrescentado à esta solução, ortossilicato de tetraetila (TEOS) e a mesma foi agitada por 30 minutos. Após esse tempo, foi inserido ao sistema ácido clorídrico (HCl) a 0,01 mol/L e a agitação foi mantida por 24 horas, para ocorrer o processo de hidrólise do TEOS. Posteriormente, foi adicionado ao sistema hidróxido de amônio (NH₄OH) 1 mol/L e o sistema foi mantido em repouso por 24 horas, resultando em um gel.

Para a caracterização, realizou-se espectroscopia no infravermelho, que por sua vez tem como objetivo identificar grupos funcionais em um dado material. Foram analisados o fármaco nafcilina, as nanocápsulas com nafcilina e as nanocápsulas sem adição do fármaco.

Do gel obtido, uma fração foi armazenada e outra foi liofilizada para posterior caracterização. Um desses processos de caracterização consistiu na realização de medidas de espectroscopia vibracional na região do infravermelho as quais foram

realizadas com a utilização de espectrofotômetro FT-IR Spectrometer Frontier (PerkinElmer).

O diâmetro médio (DM) e o índice de polidispersão (IPD) das partículas foram determinados através da técnica de espalhamento de luz dinâmico (Dynamic Light Scattering (DLS) (BIC 90 plus, Brookhaven Instruments Corp., NY, EUA)). Uma alíquota do gel preparado foi diluído em 10 mL de água ultrapura e analisada com ângulo de espalhamento de 90°, temperatura de 25°C e comprimento de onda de 660 nm.

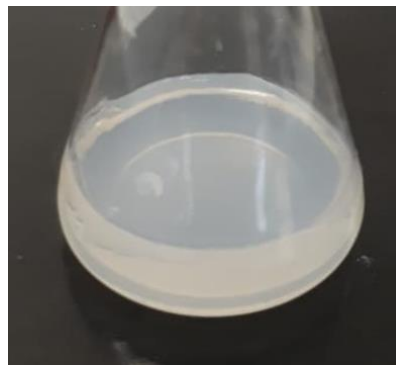
Para o ensaio de liberação, uma fração do gel liofilizado foi submetida à um recipiente contendo água ultrapura o qual foi mantido fechado. O monitoramento da liberação se deu por meio da coleta de dados de absorvância do fármaco, os quais foram obtidos no espectrofotômetro uv-vis Lambda XLS + (PerkinElmer) no comprimento de onda de 227 nm.

Os testes de citotoxicidade foram realizados por meio do ensaio de lacta desidrogenase (LDH) que se baseia na liberação de tais enzimas no meio extracelular, em decorrência do rompimento da membrana celular que ocorre em células mortas. Uma vez liberada, a LDH converte lactato em piruvato e NADH, os quais reagem com um reagente fluorescente específico, produzindo um produto de intensidade fluorescente proporcional a qualidade de LDH liberado no meio celular e, conseqüentemente, de morte celular.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a síntese, o produto é obtido na forma de um gel (Figura 1) que quando colocado em água, a olho nú parece gerar uma solução, indicando que as cápsulas resultantes possuem dimensões nanométricas.

Figura 1 - Nafcilina encapsulada em sílica



Fonte: autoria própria (2019).

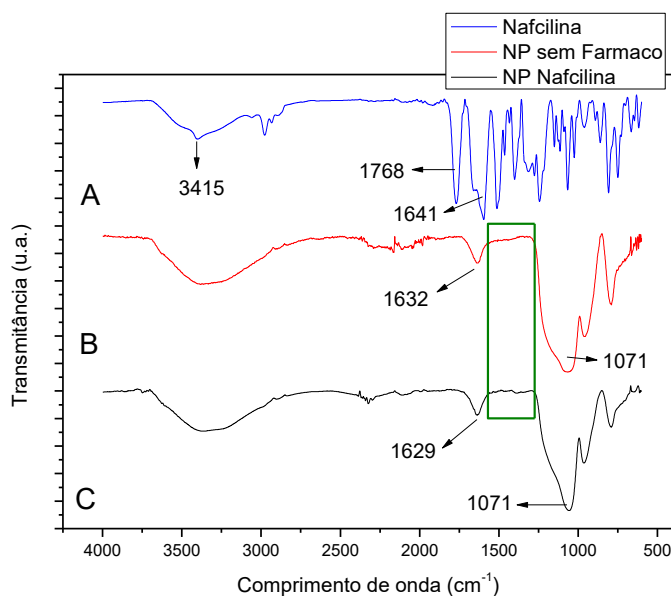
Figura 2 (A) ilustra o espectro vibracional do fármaco nafcilina, em que apresentou uma banda larga na região entre 3000 a 3700 cm^{-1} que foi atribuída ao estiramento da ligação de O-H ($\nu_{\text{O-H}}$) derivada do ácido carboxílico. A banda apresentada na região de 3415 cm^{-1} representa o estiramento da ligação N-H proveniente da amida. A banda presente na região de 1768 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=O da lactama contida na molécula. Em aproximadamente

1641 cm^{-1} observou-se uma adsorção atribuída a deformação axial da ligação C=O do ácido carboxílico.

A Figura 2 (B) é referente ao espectro vibracional das nanocápsulas sem o fármaco. A banda presente na região entre 1000 a 1200 cm^{-1} foi atribuída a vibração da cadeia Si-O-Si_(vSi-O-Si). Observou-se também absorção na região de 1629 cm^{-1} que corresponde à deformação angular (δ) da molécula de água ($\delta\text{H-O-H}$). Já a banda na região 3000 a 3700 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação O-H_(vO-H) da água (Yin et al. 2011).

A Figura 2 (C) corresponde ao espectro vibracional das nanocápsulas de nafcilina. Seu espectro é similar ao espectro das nanocápsulas puras, porém, na região de 1200 a 1560 cm^{-1} , há a presença de bandas que comprovam o encapsulamento da nafcilina. Por ser encapsulado em baixa concentração as bandas da nafcilina nas capsulas de sílica são de baixa intensidade (Wang et al. 2008).

Figura 2 - Espectro no infravermelho da nafcilina, nanopartículas sem fármaco e das nanopartículas de nafcilina

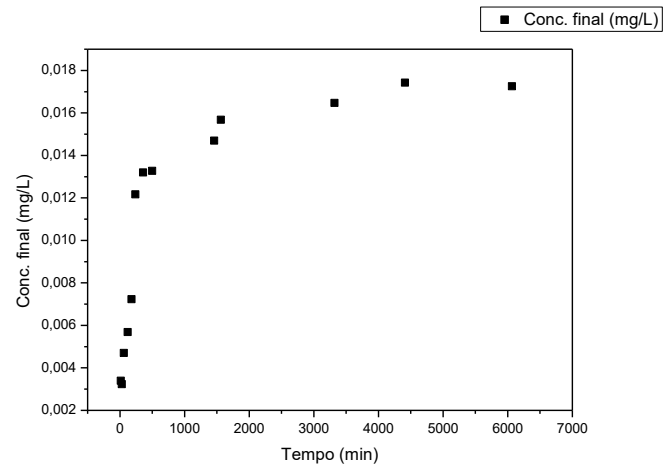


Fonte: autoria própria (2019).

Os resultados dos ensaios para determinação da distribuição do tamanho das partículas apontam que o diâmetro efetivo da partícula foi 418,4 nm e o índice de polidispersidade foi de 0,311.

Os dados do ensaio de liberação da nanopartículas de nafcilina (Figura 3), indicam que, a taxa de liberação do fármaco aumenta progressivamente nas primeiras 26 horas, mantendo-se mais ou menos constante após esse tempo.

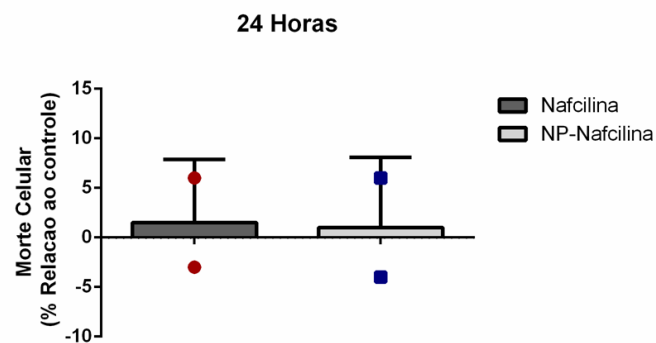
Figura 3 - Curva cinética da nafcilina encapsulada com sílica



Fonte: autoria própria (2019)

Foram realizados testes para determinar a toxicidade dos compostos para comparar se a sílica poderia deixar o sistema mais tóxico. A Figura 4 apresenta a porcentagem de morte celular após 24 horas de contato das células com o antibiótico nafcilina e com as nanopartículas de nafcilina. A partir da análise dos dados preliminares, pode ser observado que a NP-Nafcilina não apresenta toxicidade maior que o antibiótico puro. No entanto mais ensaios serão realizados para confirmar os resultados obtidos.

Figura 4 – Dados do ensaio de toxicidade da Nafcilina e das nanopartículas de Nafcilina realizado por meio da análise de morte celular.



Fonte: autoria própria (2019).

CONCLUSÃO

Os dados obtidos por espectroscopia na região do infravermelho e espalhamento de luz dinâmico comprovaram a efetivação do encapsulamento da nafcilina e os resultados mostraram que seu tamanho é de dimensão nanométrica. Os dados dos testes de toxicidade e liberação indicaram que as partículas sintetizadas não apresentam toxicidade maior que o fármaco puro e que essas exibem uma liberação controlada de no máximo quatro dias.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, USP - Universidade de São Paulo e UNICENTRO - Universidade Estadual do Centro-Oeste.

REFERÊNCIAS

- CAPELETTI, L. B., de OLIVEIRA, L. F., GONCALVEZ, K. D. A., de OLIVEIRA, J. F. A., SAITO, A., KOBARG, J., & CARDOSO, M. B. Tailored silica–antibiotic nanoparticles: overcoming bacterial resistance with low cytotoxicity. *Langmuir*, v. 30, n. 25, p. 7456-7464, 2014.
- CIRIMINNA, R.; SCIORTINO, M.; ALONZO, G.; DE SCHRIJVER, A.; PAGLIARO, M. From Molecules to Systems: Sol-Gel Microencapsulation in Silica-Based Materials. *Chem. Rev.* 2011.
- IRACHE J.M., ESPARZA I., GAMAZO C., AGUEROS M. & ESPUELAS S. 2011. Nanomedicine: novel approaches in human and veterinary therapeutics. *Vet. Parasitol.* 180(1/2):1-25.
- LÓPEZ, T.D.F, Francos, E., GONZÁLEZ, A.F., GARCIA, M.E.D., & LAINO, R.B. Controlled Release of Nafcillin Using Biocompatible “Dummy” Molecularly Imprinted Sol-Gel Nanospheres. *Current topics in medicinal chemistry*, 15(3), 262-270. (2015).
- SANTANNA, R. C. M., ZAFALON, L. F., BRANDÃO, H. D. M., JÚNIOR, F., APARECIDO, G., PILON, L. E., & MOSQUEIRA, V. C. F. Uso de antimicrobiano nanoparticulado para o tratamento da mastite subclínica de ovelhas de corte no período seco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.36, n.9, p.826-830, 2016.
- SCHAFFAZICK, S. R., GUTERRES, S. S., FREITAS, L. L. D., & POHLMANN A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química nova*. São Paulo. Vol. 26, n. 5 (2003), p. 726-737 (2003).
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7ª. Ed. Rio de Janeiro: LTC, p. 67-78, 2007.
- WANG, J. X., WANG, Z. H., CHEN, J. F., & YUN, J. Direct encapsulation of water-soluble drug into silica microcapsules for sustained release applications. *Materials Research Bulletin*, 43(12), 3374-3381 (2008).
- WIESENTHAL A., Juntert L., WANG S., WICKLIFFE J. & WILKERSON, M. 2011. Nanoparticles: small and mighty. *Int. J. Dermatology* 50:247-254.
- WU, ZHIJIAN. JIANG, Y., KIM, T., & LEE, K. Effects of surface coating on the controlled release of vitamin B1 from mesoporous silica tablets. *Journal of Controlled Release*, v. 119, n. 2, p. 215-221, 2007.
- YIN, P.; TIAN, Y.; WANG, Z.; QU, R.; LIU, X.; XU, Q.; TANG, Q. Synthesis of functionalized silica gel with poly(diethylenetriamine bis(methylene phosphonic acid)) and its adsorption properties of transition metal ions. *Materials Chemistry and Physics*, New York, v. 129, p. 168-175, 2011.