

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE MEMBRANAS BIOATIVAS CONTENDO NARINGENINA

OLIVEIRA, Ana Maria Santos Oliveira^{11C}; **SANTOS, Anna Clara Ramos da Silva**^{21C}; **ARAÚJO, Adriano Antunes de Souza**^{3D}; **OLIVEIRA, Aldeidia Pereira**^{4D}; **LIMA, Bruno dos Santos**^{5D}; **CAMPOS, Caio de Alcântara**^{6C}; **TRINDADE, Gabriela das Graças Gomes**^{7D}; **MATOS, Isabella Gonçalves**^{81C}; **QUINTANS-JÚNIOR, Lucindo José**^{9D}; **SERAFINI, Mairim Russo**^{10D}; **SANTOS, Márcio Roberto Viana**^{11D}; **BEZERRA, Marília dos Santos**^{12D}; **BARRETO, Rosana de Souza Siqueira**^{13D}; **SANTOS, Victória Caroline Nunes**^{141C};

^{11C} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, namaria.prin6@gmail.com.

^{21C} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, clararramos29@gmail.com.

^{3D} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, adriasa2001@yahoo.com.br.

^{4D} Departamento de Biofísica e Fisiologia, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Aracaju, SE, aldeidia@gmail.com.

^{5D} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, brunolimafarm@gmail.com.

^{6M} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, caiodealcantara_@hotmail.com.

^{7D} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, gabbyggt@gmail.com.

^{81C} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, matos_isabella@hotmail.com.

^{9D} Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, lucindo_jr@yahoo.com.br

^{10D} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, maiserafini@hotmail.com.

^{11D} Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, marcio@infonet.com.br.

^{12D} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, marilia_farma12@yahoo.com.br.

^{13D} Departamento de Educação em Saúde, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Lagarto, SE, rosanafisio@hotmail.com.

^{141C} Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, victoriacaroline.farma@gmail.com.

RESUMO

A naringenina (NAR) apresenta reconhecidas propriedades farmacológicas, incluindo as atividades antitumoral, anti-inflamatória e antimicrobiana. A fim de melhorar suas limitações físico-químicas utilizou-se na formulação um polímero natural, a gelatina. Esse trabalho teve como objetivo desenvolver membranas contendo somente gelatina e as membranas lipossomais: contendo NAR com diferentes concentrações e não contendo NAR e analisar as propriedades físico-químicas. As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG) na faixa de temperatura de 25-500°C e 25-900°C, respectivamente. O intumescimento foi avaliado pelo método de imersão, utilizando tampão fosfato e soro fisiológico em intervalos de tempo de 0-24 horas. Os resultados sugeriram que a formação da membrana torna o material mais estável, protegendo o princípio ativo da ação da elevação da temperatura e mais resistente, mesmo em presença de meios bastante aquosos.

PALAVRAS-CHAVE: Naringenina; Membrana bioativa; Caracterização físico-química

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais despertam interesse pela indústria farmacêutica, dentre eles destacam-se os flavonoides.¹ Suas possíveis aplicações benéficas à saúde têm sido amplamente estudadas, como para prevenção e tratamento do câncer, doenças cardiovasculares, processos neurodegenerativos e diversas doenças crônicas envolvendo o fígado, intestino, rins e pulmões.² A naringenina (4',5,7-trihidroxiflavanona) é uma flavanona amplamente distribuída nas frutas cítricas, tomate, cereja, toranja e no cacau. Ela tem sido investigada quanto as suas propriedades farmacológicas, incluindo as atividades antitumoral, anti-inflamatória e antimicrobiana.³

No entanto, o uso da NAR como fármaco é bastante limitado, por conta da sua baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade.⁴ Na tentativa de contornar essa limitação, polímeros naturais como a gelatina, têm sido cada vez mais estudados na área da saúde devido à sua biocompatibilidade e biodegradabilidade.⁵

Diante disto, o objetivo do presente estudo foi desenvolver as membranas contendo somente gelatina (GEL) e as membranas lipossomais: gelatina-lipossomas (GEL/LIP), gelatina/naringenina a 1% (GEL/NAR 1%) e gelatina/naringenina a 2,5% (GEL/NAR 2,5%), e analisar as propriedades físico-químicas.

2. METODOLOGIA

2.1. PREPARAÇÃO

Foram desenvolvidos quatro tipos de membranas: uma contendo somente gelatina (GEL); uma contendo gelatina-lipossomas (GEL/LIP) e uma membrana contendo gelatina e naringenina incorporada em

lipossomas a 1% e a 2,5% (GEL/NAR 1% e GEL/NAR 2,5%). Para o preparo da membrana GEL, foi utilizada uma solução (60ml) contendo gelatina em pó (1g) plastificante propilenoglicol (0,2g) e ácido acético 0,5 mol/L; para a membrana GEL/LIP, foi utilizada a mesma solução de GEL, acrescida de lipossomas. Os lipossomas foram preparados com solução de fosfatidilcolina (500mg) em clorofórmio (60ml). Essa solução foi sonicada e em seguida foi realizada a evaporação do solvente por rota-evaporação. Após o solvente ter sido evaporado o filme formado no balão foi ressuspensão em água destilada (40ml) e sonicada, formando uma dispersão.

O processo de obtenção das membranas contendo GEL/NAR a 1% e a 2,5% foram semelhantes ao processo de obtenção da membrana GEL/LIP. A etapa de diferenciação foi realizada a partir do acréscimo de naringenina (10mg e 25mg, respectivamente), no momento inicial do preparo dos lipossomas. Para obtenção da membrana bioativa, foi utilizado o método denominado "casting", descrita por Cardoso (2005), que consiste em verter a dispersão aquosa do polímero (contendo ou não o princípio ativo) em suportes adequados, como por exemplo, suportes de polietileno ou placas de Petri. Estes suportes foram colocados à temperatura ambiente até a secagem para obtenção das membranas.

2.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

As membranas GEL, GEL/LIP, GEL/NAR 1%, GEL/NAR 2,5% foram caracterizadas por Calorimetria exploratória diferencial (DSC), utilizando o equipamento DSC-60 (Shimadzu) e as análises de Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG) foram feitas no equipamento TGA-60 (Shimadzu®), ambas as análises sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL/min) e razão de aquecimento de 10 °C/min, sendo o DSC realizado na faixa de temperatura de 25-500°C e o TG/DTG na faixa de temperatura entre 25-900°C, em porta amostra de alumínio e platina, respectivamente, contendo aproximadamente 2 mg de amostra. A Capacidade de Intumescimento foi avaliada pela técnica de imersão, adaptada de Hasani-Sadrabadi e col. (2011). As amostras GEL e GEL/NAR 2,5% foram fracionadas em área de 25 cm² e imersas em 100 mL de tampão fosfato (pH 7,4) à temperatura de 37±2°C. Para determinar o grau de intumescimento, as amostras foram inicialmente pesadas e imersas em recipientes contendo os meios, em diferentes intervalos de tempo: 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 24 horas. Após cada tempo, as amostras foram removidas do meio, colocadas em papel filtro para retirar o excesso de líquido e pesadas novamente. As análises foram realizadas em triplicata (n=3) e a quantidade de líquido adsorvido pelas amostras foi determinada pela equação:

$$\text{Eq. } I = \frac{(P_u - P_s)}{P_s} \cdot 100$$

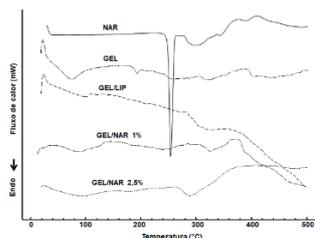
Onde, P_u (peso úmido) é o peso da amostra após o tempo de imersão no meio e P_s (peso seco) é o peso inicial da amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Na análise das curvas das amostras GEL/LIP, GEL/NAR 1% e GEL/NAR 2,5%, observou-se a ausência do pico relativo à fusão da NAR, além da ausência do evento endotérmico relativo à transição de fase presente no amostra GEL. Este dado sugere que a formação da membrana torna o material mais estável, protegendo o princípio ativo da ação da elevação da temperatura.

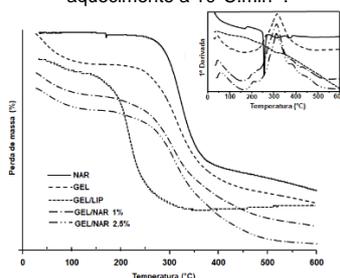
Figura 1. Curvas DSC da Naringenina (NAR), membrana de gelatina (GEL), gelatina contendo lipossomas (GEL/LIP), gelatina contendo NAR a 1% em lipossomas (GEL/NAR 1%), e gelatina contendo NAR a 2,5% em lipossomas (GEL/NAR 2,5%) em atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 ml.min⁻¹) e aquecimento a 10°C.min⁻¹.



3.2. TERMOGRAVIMETRIA/TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (TG/DTG)

O perfil da curva TG da amostra GEL e NAR apresentou três etapas de perda de massa. A membrana GEL/LIP, por sua vez, apresentou uma primeira etapa de perda de água bastante reduzida ($\Delta m_1 = 0,78\%$), seguido por uma etapa de decomposição térmica bem semelhante à amostra GEL ($\Delta m_2 = 54,61\%$) e de uma perda de material carbonáceo maior ($\Delta m_3 = 1,9\%$), provavelmente devido à presença do fosfolípido, usado na produção dos lipossomas presentes na sua composição. A temperatura de degradação registrada também foi bem próxima à da amostra GEL (318°C). As amostra GEL/NAR 1% e 2,5% apresentaram perfis de perda de massa semelhantes em todas as etapas. Além disso, as temperaturas de degradação também foram bem próximas (309°C e 311°C , respectivamente). Vale destacar que, mesmo com a presença de NAR em ambas as formulações, a temperatura de degradação foi mais alta em relação à NAR pura. Isto indica um aumento na estabilidade térmica, ou seja, a NAR incorporada na membrana encontra-se protegida da ação da temperatura.

Figura 2. Curvas TG/DTG da Naringenina (NAR), membrana de gelatina (GEL), gelatina contendo lipossomas (GEL/LIP), gelatina contendo NAR a 1% em lipossomas (GEL/NAR 1%), e gelatina contendo NAR a 2,5% em lipossomas (GEL/NAR 2,5%) em atmosfera dinâmica de nitrogênio ($100\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$) e aquecimento a $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.



3.3. CAPACIDADE DE INTUMESCIMENTO

O perfil de intumescimento de GEL apresentou um ganho de massa significativo nos 120 minutos iniciais, passando a apresentar um perfil de ganho de massa mais lento nos tempos seguintes, até aproximadamente as 13h, onde começa a perder massa, provavelmente devido à desintegração da gelatina que forma a estrutura da membrana no meio.

Já a amostra GEL/NAR 2,5% apesar de apresentar perfil de intumescimento semelhante à amostra GEL nos primeiros 120 minutos, absorveu menos líquido com o passar do tempo, mantendo seu perfil praticamente linear até o final do experimento, sem perdas de massa. Esse perfil demonstra que a adição de fosfolídeos, presente nos lipossomas é necessário, pois torna a membrana mais resistente, mesmo em presença de meios bastante aquosos. Essa característica é interessante para uma membrana bioativa com finalidade de aplicação em queimaduras, por exemplo, já que o interesse é que a membrana ceda seus princípio ativo para auxiliar a cicatrização da lesão, como relatado em estudo de Nunes e colaboradores (2011), e ao mesmo tempo absorva a umidade do local lesionado, a fim de evitar possíveis infecções recorrentes.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Membranas de gelatina têm sido materiais bastante estudados, pois promovem a modificação das propriedades biofarmacêuticas do fármaco sem que ocorra modificação na sua estrutura molecular, sendo interessantes para administração de fármacos que apresentam problemas como: baixa solubilidade aquosa, problemas de estabilidade, toxicidade, baixa biodisponibilidade. Neste sentido, a preparação de medicamentos a partir na NAR, uma matéria prima que possui fonte abundante no Estado de Sergipe, pode representar um potencial de interesse econômico na área industrial farmacêutica.

5. REFERÊNCIAS

1. M. Dalagnol, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal De Santa Catarina. Florianópolis, 2011.
2. D. F. A. L. P. Flambó, Dissertação de Mestrado, Universidade Fernando Pessoa, 2013.
3. K. Patel; G. K. Singh; D. K. Patel, 2014, 1–13.
4. C.C. Yen; S. C. Shen; H. Lin, 2003 , 1139-1150.
5. C.R. Xavier, Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, UFRGS, 2006.