Nanoestruturas poliméricas para veiculação de peptídeos antimicrobianos com potencial leishmanicida

Marília Medeiros*, Juliana S. R. Costa, Laura de O. Nascimento.

Resumo

A leishmaniose cutânea é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, principalmente a *L. amazonensis* e *brasiliensis* em nosso país. É considerada doença negligenciada pela OMS, sendo que no Brasil ocorre predominantemente nas regiões Norte e Nordeste. Os tratamentos disponíveis atualmente para a leishmaniose cutânea apresentam alta toxicidade e requerem hospitalização do paciente. Este trabalho propõe o desenvolvimento e avaliação físico-química de nanopartículas poliméricas capazes de carrear polimixina B, um peptídeo antimicrobiano com ação leishmanicida, como alternativa no tratamento da leishmaniose cutânea.

Palavras-chave:

Leishmaniose cutânea, nanopartículas, polimixina B.

Introdução

A leishmaniose é uma doença causada por um protozoário parasita intracelular. Esta doença pode se manifestar nas formas visceral e tegumentar americana (LTA), que pode acometer mucosas ou a pele. No Brasil em 2013 foram notificados 18.226 casos de LTA, sendo que a maior parte desses pertenciam a manifestação cutânea¹. A leishmaniose cutânea causa uma resposta inflamatória na derme capaz de levar a formação de ulcerações. Os tratamentos disponíveis atualmente para a doença devem ser administrados por via endovenosa em hospitais por um período de 10 a 40 dias. Essa aplicação torna-se um incômodo ao paciente diminuindo a adesão ao tratamento, além de poder apresentar efeitos adversos devido à toxicidade dos medicamentos².

A polimixina B é um peptídeo antimicrobiano, que foi identificado como potencial inibidor do crescimento de *Leishmania*³. No entanto, é rapidamente hidrolisado por peptidases. Para proteger o fármaco e prolongar seu tempo de ação, este pode ser encapsulado em nanopartículas. Essas estruturas podem ser produzidas a partir de monômeros de polímeros, por exemplo, os quais podem carrear e prolongar a liberação de fármacos no organismo, além de ter potencial redução da toxicidade.

Esse trabalho visa desenvolver e avaliar as características físico-químicas de nanopartículas produzidas a partir do polímero sintético biodegradável n-polibutil-cianoacrilato (PBCA) para veiculação do peptídeo antimicrobiano de escolha, polimixina B.

Resultados e Discussão

Através da metodologia de polimerização em emulsão⁴ proposta para produção de nanopartículas de PBCA (PBCAnp) foi possível obter nanopartículas vazias (PBCAnp-b), assim como PBCAnp-p1, com 1 mg/mL de polimixina B, PBCAnp-p5 (5 mg/mL) e PBCAnp-p10 (10 mg/mL).

A análise de tamanho médio de partícula e potencial zeta (ζ) das nanopartículas produzidas foi feita utilizando as técnicas de Dynamic Light Scattering (DLS) e Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). O tamanho médio medido por DLS foi em torno de 200 nm para as PBCAnp analisadas, enquanto na medição por

NTA foi em torno de 170 nm. As diferenças observadas se devem às técnicas utilizadas.

A eficiência de encapsulação (EE) da polimixina B nas PBCAnp foi calculada através de método indireto, quantificando a concentração do fármaco no sobrenadante. Para tal, foi utilizado o reagente de BCA (ácido bicinconínico) capaz de quantificar proteínas.

$$EE \% = \left(\frac{\text{concentração de fármaco no sobrenadante}}{\text{concentração de fármaco adicionado}} \right) * 100$$

O perfil de liberação do da polimixina B nas PBCAnp foi determinado em sistema de célula de difusão de Franz, comparativamente com liberação do fármaco livre. As PBCAnp-p5 apresentaram liberação de 50% fármaco após 6-7 horas, enquanto o fármaco livre leva 1 hora para atingir a mesma liberação.

Uma análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada com PBCAnp-b secas a temperatura ambiente e demonstrou que houve diminuição do tamanho das partículas. Esse fato pode ser atribuído a retirada de água da amostra.

Conclusões

Nanopartículas de PBCA (PBCAnp) apresentaram tamanho médio variando de 203,7 a 216,9 nm, sendo que as PBCAnp com polimixina B não apresentaram alteração significativa de tamanho. O potencial ζ muda de um valor negativo nas PBCAnp-b, para positivo nas PBCAnp com polimixina, demonstrando que houve adsorção do fármaco nas nanopartículas. A eficiência de encapsulação mostrou-se inversamente proporcional à quantidade de polimixina B adicionada, sendo 21,6% a maior eficiência de encapsulação medida, que corresponde à PBCAnp-p1. O perfil de liberação medido demonstrou a liberação sustentada de polimixina B promovida pelas nanopartículas poliméricas.

Agradecimentos

Faepex, CNPq e Fapesp.

¹http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=29&Itemid=40754, acesso em junho 2016.

² Brajbarg, J et Al. Antimicrob Agents Chemother, **1990**, 34, 183.

³ Bektran, S., Duque. Biomédica (Bogotá), 1992, 12, 68.

⁴ Couvreur, P.; Vauthier, C. Journal of Controlled Release, **1991**, 17, 187.