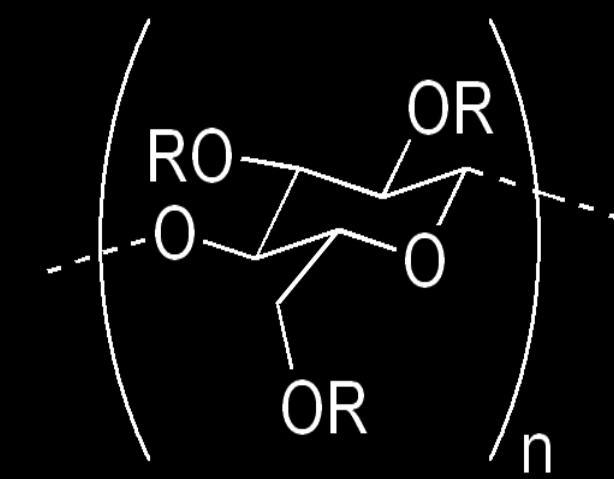


Caracterização das interações físico-químicas entre polifenóis de *Uncaria tomentosa*, fármacos, eletrólitos e o agente geleificante Hipromelose.



R = H or CH₃ or CH₂CH(OH)CH₃

Carvalho, A. R., Bergamo, V. Ortega, G. G.

INTRODUÇÃO

Uncaria tomentosa (Rubiaceae) é uma liana das florestas sul-americanas, conhecida como unha-de-gato ou cat's claw. Da casca dos seus galhos é obtida uma fração, insolúvel em água, composta majoritariamente por polifenóis de baixa e alta massa molecular. Estudos anteriores revelaram uma nítida atividade antifúngica para essa fração [1]. Hipromelose (HPMC) é um polímero utilizado como agente geleificante, carreador de fármacos, na modulação da liberação desses [2] e agente solubilizante mediante interações hidrofílicas e hidrofóbicas. Como hipótese de trabalho, postula-se a potencial vantagem da associação de HPMC com os polifenóis de *Uncaria* (FIP), considerando o efeito de eletrólitos na veiculação sinérgica dos fármacos-modelo fluconazol (ácido fraco) e terbinafina (base fraca).

OBJETIVO

Avaliar a potencial solubilização da fração bioativa de polifenóis de cascas de *Uncaria tomentosa* utilizando matrizes supra-micelares de HPMC na presença de eletrólitos e seu efeito na atividade antifúngica *in vitro*.

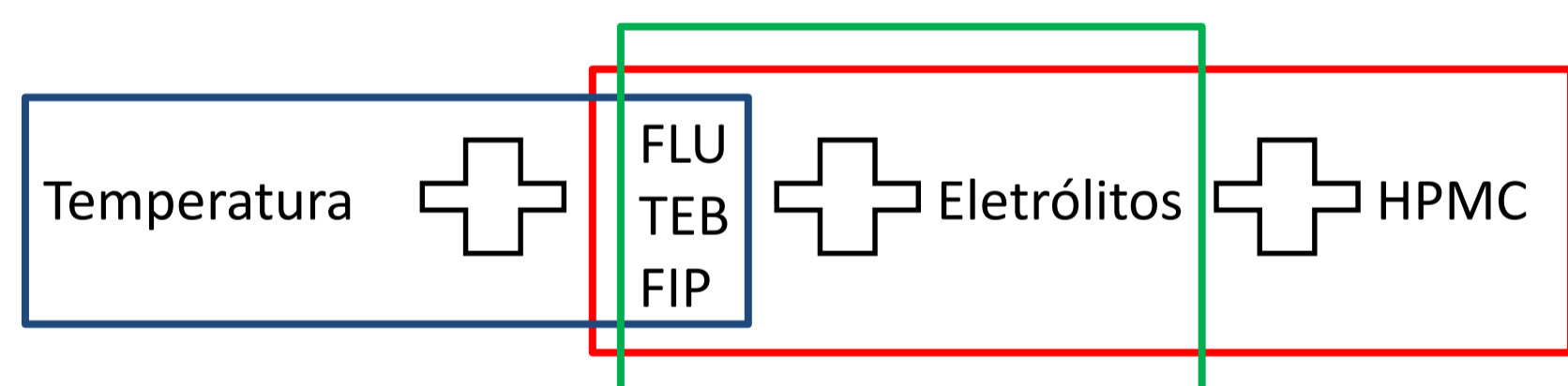
METODOLOGIA

Fração Insolúvel de Polifenóis:

Cascas de *U. tomentosa* foram obtidas por maceração dinâmica por 2 h, utilizando EtOH a 40%, seguido de concentração à vácuo e repouso de 24 h, a 4 °C. O precipitado formado foi filtrado, seco em estufa a 40 °C (fração insolúvel de polifenóis – FIP). Essa fração foi caracterizada por CLAE-PDA mediante metodologia previamente validada [3].

Testes de Solubilidade e Solubilização

Quantidades em excesso de FIP, fluconazol e terbinafina foram incorporadas em dispersões de HPMC a 0,04%, até 0,4%, avaliando-se o efeito solubilizante da HPMC, em água, com agitação magnética durante 24 h, a 37 °C, considerando as solubilidades intrínsecas determinadas nas mesmas condições. As amostras foram centrifugadas (25000 G). Do sobrenadante, as quantidades solubilizadas foram determinadas por CLAE-PDA e UV. O efeito da adição dos eletrólitos (NaCl, KCl, NaH₂PO₄, NaSO₄, CaCl₂ e KI) foi avaliado em função da temperatura, concentração e força iônica.



Interações Hipromelose-Polifenóis frente a eletrólitos

As interações foram investigadas por DSC e difusão dinâmica de luz (enquanto tamanho das micelas e índice de poli dispersão). O potencial zeta das micelas foi determinado pelo potencial eletrocinético. Teste de correlação com a solubilização foi realizado, segundo temperatura, concentração e força iônica.

Testes de Avaliação Antifúngica - MIC

Os testes foram realizados segundo as diretrizes CLSI (M27-A3), com isolados de *Candida glabrata* e *C. tropicalis*. O efeito sobre a Concentração Inibitória Mínima (MIC) foi avaliado para a fração FIP, associada ou não a HPMC ou com os fármacos FLU e TB. A correlação entre atividade observada e solubilização foi testada (p<0,05).

REFERÊNCIAS

- [1] Moraes, R.C. Dalla Lana,
- [2] Li, C. L., Martini, L. G., Ford, J. L., & Roberts, M. (2005). The use of hypromellose in oral drug delivery. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(5), 533–546.
- [3] PAVEI, C. Obtenção e avaliação de frações purificadas farmacologicamente ativas presentes em *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. (Unha-de-Gato), UFRGS: Tese de Doutorado

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A associação com HPMC causou sensível diminuição da solubilidade intrínseca da FIP (Tabela 2), próxima àquela também observada para TEB. O aumento da temperatura reverteu esse efeito até 20% da solubilidade intrínseca. A solubilidade intrínseca da FIP e dos fármacos foi pouco modificada pela adição de eletrólitos, exceto para NaH₂PO₄, que causou diminuição significativa em todos os casos.

Amostra	Solubilidade (mg/ml)
FLU	8,61
FLU-PO4	7,27
TEB	7,94
TEB-PO4	5,56 (a)
FIP	0,42
FIP-PO4	0,22 (a)

Tabela 2: Efeito da adição de fosfato de sódio sobre a solubilidade de FIP, FLU e TEB a 37°C. (a) significativo p<0,05.

A associação com HPMC alterou a solubilidade intrínseca de FIP, FLU e TB (tabela abaixo), contudo, de forma diversa, senão errática.

HPMC (%)	0,04	0,08	0,12	0,16	0,20	0,24	0,28	0,32	0,36	0,40
FIP	0,38	0,43	0,4	0,41	0,43	0,42	0,44	0,39	0,43	0,42
FLU	8,23	8,31	8,55	8,47	8,12	8,4	8,89	8,32	9,05	8,15
TB	3,96	4,45	4,26	4,2	4,46	4,46	4,63	4,26	4,36	4,3

Tabela 3: Solubilidades com diferentes frações de Hipromelose para FLU, TEB e FIP a 37°C.

Quando a mistura polímero, fármaco (fração) e eletrólitos é realizada ocorre uma significativa alteração dessa solubilidade, onde é respeitada a escala de Hofmeister; onde, majoritariamente, a interação com os ânions modifica a estruturação secundária e terciária do polímero sendo, portanto, um caotrope quanto a sua organização do polímero. Logo íons que tem um tendência mais forte a hidratação, como SO₄ e PO₄ deslocam água tanto do fármaco e, conseqüentemente, da fração, como do polímero, ocasionando uma menor disponibilidade para a hidratação do restante da mistura.

Anions: SCN⁻ > NO₃⁻ > Cl⁻ > citrate > acetate > phosphate > SO₄²⁻
Cations: Ca²⁺ > Mg²⁺ > Na⁺ = K⁺ > NH₄⁺ > N(CH₃)₄⁺

Figura 1: Série de Hofmeister.

Os resultados do tamanho mostram a formação de estruturas supra-micelares, com alto grau de poli dispersão, começando em micelas de 35nm indo até estruturas maiores, e conseqüentemente, mais complexas na ordem de 1µm. Quando elevamos a temperatura dessas estruturas ocorre uma diminuição na poli dispersão das mesmas. Quanto ao potencial zeta, evidencia-se que a deposição dos fármacos e eletrólitos nessas estruturas supra-micelares modifica a magnitude da carga da mesma, podendo neutralizar em alguns casos o potencial exibido.

O teste microbiológico sugere que a modificação da solubilidade influencia, principalmente, quando a solubilidade é o limitante no teste, como é o caso da FIP e da TEB. E que a presença de eletrólitos, principalmente, de PO₄ modifica a atividade *in vitro*. No entanto a presença de HPMC no teste parece influenciar ligeiramente o MIC do FLU em maior magnitude do que a TEB e a FIP.

CONCLUSÃO

As interações físico-químicas entre FIP e HPMC são evidentes e alteram a solubilidade dos polifenóis e dos fármacos utilizados como modelo nesses ensaios. Essa diminuição deve-se, provavelmente, a competição por água que ocorre entre o polímero em dispersão e o respectivo sólido em excesso, dessa maneira uma menor quantidade de água está disponível para solvatar o excedente em dispersão, e logo, mantê-lo em solução. O efeito pronuncia-se quando temos presente os eletrólitos.

A quantificação do efeito de eletrólitos é importante na escolha do tampão para os testes *in vitro*, bem como para os outros usos da HPMC. No teste microbiológico fica evidente que a HPMC atua mais favoravelmente onde ela influencia menos a solubilidade. E na presença de PO₄ repete-se o efeito achado na HPMC.