

OBTENÇÃO DE MICROPARTÍCULAS A BASE DE SERICINA E ALGINATO PARA INCORPORAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO

T.A. SOARES¹, J. M. M. VIDART¹, T. L. DA SILVA¹, M. L. GIMENES²,
M. G. C. da SILVA¹ e M. G. A. VIEIRA¹

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química

² Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química

E-mail para contato: melissagav@feq.unicamp

RESUMO – A fim de pesquisar novas formas de incorporação de fármacos, o presente estudo se dedica a desenvolver técnicas de extração da sericina, a formação da blenda entre esta e o alginato e a incorporação de diclofenaco de sódio. Para tal, extraiu-se a sericina por via física, através de autoclave, e utilizou-se de gotejamento em solução de CaCl 3 % para se obter as partículas. A partir das partículas produzidas realizaram-se ensaios de incorporação, para definir a eficiência de incorporação do diclofenaco de sódio à blenda.

1. INTRODUÇÃO

A sericina é uma proteína globular e hidrossolúvel encontrada nos casulos do “Bicho da Seda” (*Bombyx mori*), sendo geralmente descartada nos processos de degomagem e fiação da seda. Esse descarte pode provocar danos ao meio ambiente, que seriam evitados se a proteína fosse reaproveitada, pois esta possui várias propriedades que vêm despertando o interesse da comunidade científica, como aplicação em cosméticos, suportes para enzimas imobilizadas, suplementação alimentar, materiais médicos e farmacêuticos e fibras funcionais, bem como características antioxidantes, antibacterianas e resistência à radiação ultravioleta (ZHANG, 2002; KONGDEE et al., 2004; MONDAL et al., 2007; ARANWIT et al., 2012).

O alginato é muito utilizado em diversos tipos de indústrias, como farmacêutica, alimentícia, têxtil e de papel, em função de determinadas características, como a biocompatibilidade, bioadesividade e sensibilidade ao pH, que o tornam propício para incorporação de drogas. Desse modo, a blenda entre sericina e alginato é muito favorável para incorporação de fármacos (HWANG et al., 1995; ZHANG et al., 2002; KHANDAI et al., 2010).

O desenvolvimento de novas formas farmacêuticas de liberação modificada, a partir dos princípios ativos já existentes, é uma alternativa que vem sendo adotada para que os medicamentos apresentem maior absorção do ativo e redução dos efeitos colaterais, visto que o desenvolvimento de novos princípios ativos apresenta um elevado custo, sendo, portanto,

inviável economicamente (ALLEN *et al.*, 2007). O diclofenaco de sódio é uma substância anti-inflamatória não esteroide, utilizado para reduzir a inflamação e aliviar a dor, funcionando como analgésico em situações de artrites e lesões agudas. O desenvolvimento de novas formas farmacêuticas de liberação modificada pode melhorar o efeito terapêutico deste fármaco, além de reduzir os efeitos colaterais indesejados (SANTOS *et al.*, 2007; KAITH *et al.*, 2011; ALBANEZ, 2012).

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo o desenvolvimento de micropartículas de sericina e alginato, visando avaliar a aplicação do material produzido na incorporação de diclofenaco de sódio em sua estrutura. A sericina foi extraída dos casulos do *Bombyx mori* e o alginato foi obtido comercialmente. A morfologia do material produzido e sua estrutura química foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, respectivamente. Para determinar a eficiência de incorporação, ensaios de incorporação foram realizados.

2. METODOLOGIA

2.1. Processo de extração da sericina

Através da empresa BRATAC, com sede na cidade de Londrina, foram obtidos os casulos do *Bombyx mori*, que com tesoura e pinça, foram limpos e cortados em pedaços de aproximadamente 1 cm² de área. Logo depois, foram lavados com água corrente e enxaguados por três vezes com água deionizada. A seguir, os casulos foram colocados em estufa a 50 °C para a secagem por 12 horas, ou até que atingissem massa constante. Ao serem retirados da estufa, os casulos foram resfriados à temperatura ambiente, sendo colocados em dessecadores com sílica gel, e posteriormente pesados em balança analítica, para serem utilizados nos experimentos de extração. Nesta etapa, os casulos foram colocados em erlenmeyer com água deionizada na razão de 40 g de casulo para 1 L de água, e em seguida, conduzidos à autoclave. O processo dura 40 minutos e o ambiente da autoclave deve ser mantido em 1 kgf.cm⁻² de pressão manométrica e 120 °C de temperatura, conforme metodologia descrita por Tomadon JR (2011).

Foi utilizado o método de precipitação por congelamento, a fim de realizar o fracionamento da sericina. Sendo assim, a solução de sericina extraída foi acondicionada em ambiente fechado e mantida em temperatura ambiente por aproximadamente 12 horas e, logo em seguida, em congelador comum por um período de 24 horas. Após esse período, a solução foi descongelada e esta passou por uma separação de fases com o sobrenadante contendo proteínas insolubilizadas, sendo que estas foram separadas através de filtração com papel filtro de porosidade 14 µm. Após a filtração, é possível ajustar a concentração da solução de sericina para 2,5 % (m/v), a qual foi utilizada para a formação da blenda e posterior incorporação do fármaco.

2.2. Incorporação do fármaco

Como proposto por Silva *et al.* (2013) para produção da blenda de sericina e alginato, a solução de sericina 2,5 % (m/v) foi aquecida em autoclave a 70 °C por 10 minutos e, então, foi agitada mecanicamente a 4000 rpm em Ultraturrax®. A solução esfriou até 55 °C e adicionou-se alginato a 2 % (m/v), mantendo-se a agitação. Após a solubilização do alginato,

diversas quantidades de diclofenaco de sódio foram adicionadas à blenda (0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 % e 3 % (m/v)), originando diferentes formulações (F1, F2, F3, F4 e F5). Por fim, essa solução foi agitada a 8000 rpm, até que todo o fármaco fosse dissolvido.

2.3. Preparação das micropartículas

Para preparar as micropartículas utilizou-se uma adaptação da metodologia de Khandai *et al.* (2010) e Silva *et al.* (2013), sendo esta realizada por gotejamento seguido de reticulação. Através de um sistema de bombas, a blenda entre a sericina e o alginato contendo diclofenaco de sódio foi gotejada, sob agitação magnética, em uma solução de cloreto de cálcio 3 % (m/v), ocorrendo rápida gelificação da solução. Depois desse processo, as partículas foram mantidas sob agitação em Jar Test a 80 rpm, durante 30 minutos. Por fim, as micropartículas foram lavadas com água deionizada e secas à temperatura ambiente.

2.4. Ensaios de incorporação

Para realizar os ensaios de incorporação, uma pequena quantidade de micropartículas secas foi moída em almofariz de porcelana, transferindo-se, em seguida, 0,01 g de micropartículas moídas para um balão volumétrico de 25 mL, onde adicionou-se 15 mL de metanol. Este balão volumétrico foi conduzido ao ultrassom modelo Brason 1510-USA, onde permaneceu por 30 minutos. Após este período, completou-se o volume do balão com metanol, deixando-o em repouso por 1 hora, para a total sedimentação de toda a suspensão. Decorrido este tempo, uma alíquota de 400 µL foi coletada e diluída em um balão volumétrico de 10 mL com metanol.

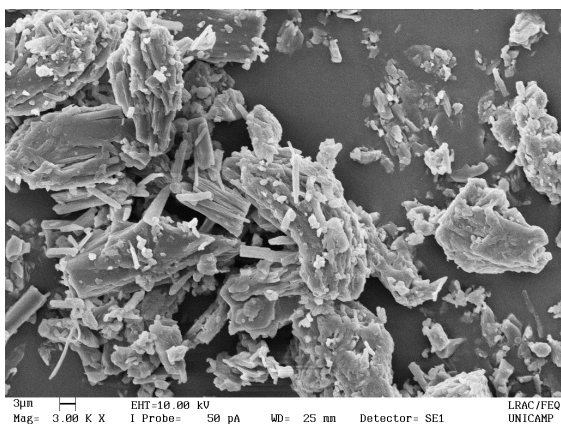
A concentração de diclofenaco de sódio presente na solução foi determinada por espectrofotômetro modelo UV mini 1240 Shimadzu – Japão, no comprimento de onda de máxima absorção do diclofenaco de sódio, determinado previamente, equivalente a 282 nm. A eficiência de incorporação foi calculada a partir da Equação 1.

$$\text{Eficiência de incorporação} = \frac{\text{Concentração de fármaco obtido}}{\text{Concentração de fármaco teórico}} \times 100 \quad (1)$$

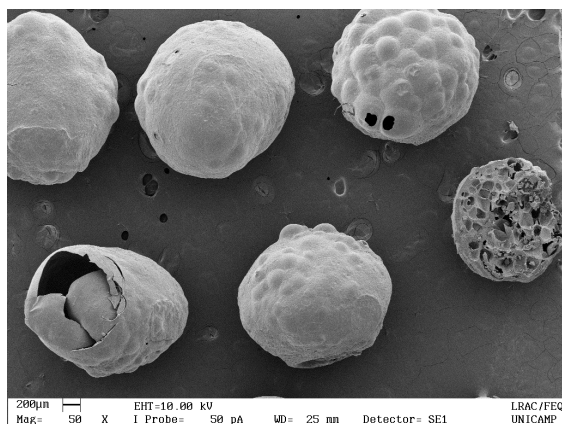
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A morfologia das micropartículas de sericina e alginato contendo diclofenaco de sódio foi analisada pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), sendo possível verificar a eficiência na formação de partículas, porém constatou-se a presença de bolhas de ar, e acredita-se que essas bolhas sejam em decorrência da agitação a 8000 rpm. A Figura 1 apresenta as imagens obtidas por MEV das formulações produzidas. Na Figura 1a é possível verificar a forma da partícula de diclofenaco de sódio, a qual se repete na superfície da micropartícula em (1c) e no corte da mesma em (1d), sendo possível perceber a presença de diclofenaco de sódio na micropartícula. Na Figura 1b verifica-se a formação esférica das micropartículas.

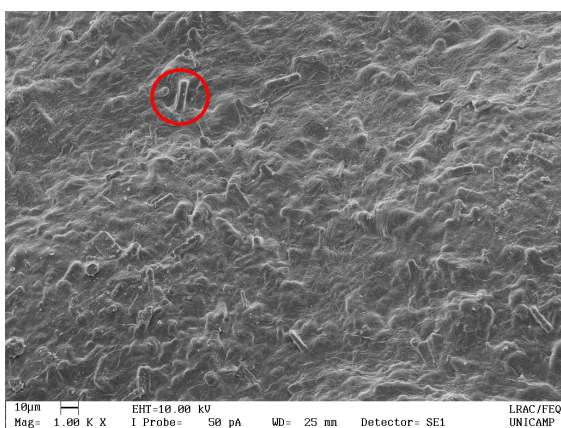
Figura 1 – Imagens obtidas por MEV. (a) Diclofenaco de sódio puro. (b) Micropartículas de sericina, alginato e diclofenaco de sódio. (c) Superfície da micropartícula. (d) Corte da micropartícula.



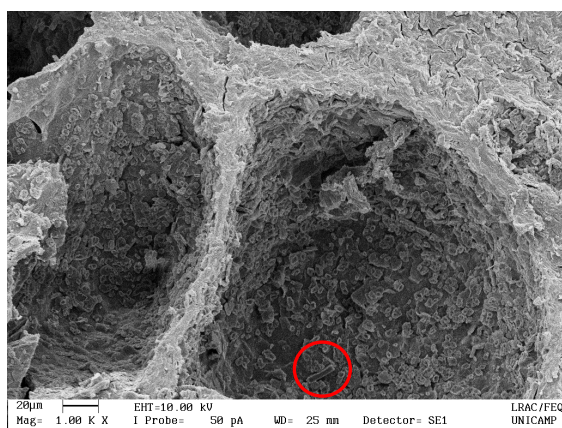
(a)



(b)



(c)



(d)

A partir dos ensaios de incorporação e pela utilização da Equação 1, foi possível verificar a eficiência de incorporação do diclofenaco de sódio à blenda, para as diferentes formulações, sendo os resultados apresentados na Tabela 1.

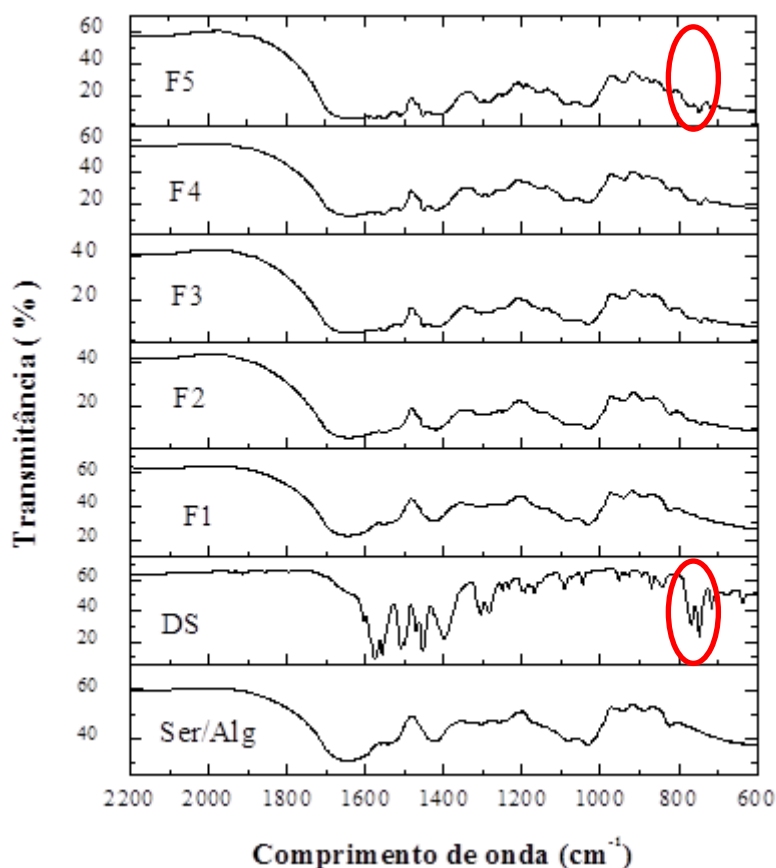
Tabela 1 – Eficiências dos ensaios de incorporação do fármaco.

| Formulação | Sericina (g) | Alginato (g) | Diclofenaco (g) | Eficiência/rendimento (%) |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|------------------------------|
| 1 | 2,5 | 2,0 | 0,5 | 15,58 |
| 2 | 2,5 | 2,0 | 1,0 | 34,95 |
| 3 | 2,5 | 2,0 | 1,5 | 35,72 |
| 4 | 2,5 | 2,0 | 2,0 | 33,95 |
| 5 | 2,5 | 2,0 | 3,0 | 53,80 |

A análise de FTIR foi realizada com todas as formulações farmacêuticas (F1, F2, F3, F4 e F5), com a blenda entre sericina e alginato sem presença de fármaco (Ser/Alg) e com o

diclofenaco de sódio puro (DS), e seus espectros estão apresentados na Figura 2. Pode-se perceber que há uma banda mais evidente, conforme destacado na Figura 2, localizada entre 700 cm^{-1} e 800 cm^{-1} , presente no diclofenaco de sódio, e que se repete nas formulações farmacêuticas. Esta banda de absorção não está presente na blenda de sericina e alginato, assim sendo, pode-se inferir que a incorporação do fármaco foi bem sucedida.

Figura 2 – Bandas de absorção das diferentes formulações, da sericina e alginato e do diclofenaco.



4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o método escolhido para extração da sericina, por via física e autoclave, foi apropriado, pois extraiu a sericina dos casulos de modo eficiente e barato, além de não demandar muito tempo, mesmo que a quantidade de material bruto tenha sido muito maior que o produto final obtido. Em relação à formação das partículas, pode-se dizer, por meio das análises de MEV, que estas foram bem formadas, com exceção a algumas fissuras e bolhas de ar presentes.

Quanto à incorporação de diclofenaco de sódio à blenda de sericina e alginato, pode-se dizer que foi efetiva, mesmo não apresentando uma eficiência muito elevada, principalmente para as partículas com menor quantidade de fármaco adicionada. A efetividade desta

incorporação pode ser confirmada, além dos ensaios de incorporação, através das análises de MEV e FTIR. Por fim, conclui-se que os métodos até então empregados obtiveram sucesso.

5. REFERÊNCIAS

- ALBANEZ, R. Recobrimento gastrorresistente de pellets de diclofenaco de sódio em leito fluidizado tipo Wurster. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2012. 159p. Dissertação (Mestrado).
- ALLEN Jr, L. V.; POPOVICH, N. C.; ANSEL, H. C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8ª ed, Porto Alegre: Ed. Artmed, 2007, 776p.
- ARAMWIT, P.; SIRTIENTONG, T.; SRICHNA, T. Potencial applications of silk sericin a natural protein from textile industry by-products. *Waste management and Research*. v.30, n.3, p.217-224, 2012.
- HWANG, S., RHEE, G. J, LEE, K. M., OH, K., KIM, C., Release characteristics of ibuprofen from excipient-loaded alginate gel beads. *International Journal of Pharmaceutics*. n.116, p. 125-128, 1995.
- KHANDAI, M.; CHAKRABORTY, S.; SHARMA, A.; PATTNAIK, S.; PATRA, C. N.; DINDA, S. C.; SEM, K. K. Preparation and evaluation of algino-sericin mucoadhesive microspheres: An approach for sustained drug delivery. *Journal of Advanced Pharmaceutical Research*, v.1, p.48–60, 2010.
- KONGDEE, A., BECHTOLD, T., TEUFEL, L. Modification of Cellulose Fiber with Silk Sericin. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 96, p.1421-1428, 2004.
- MONDAL, M.; TRIVEDI, K.; KUMAR, N. The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn. - A review. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, v.5, n.2, p.63–76, 2007.
- SILVA, T. L.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Extração de sericina de casulos do bicho da seda (*bombyx mori*) e formação de partículas a base de sericina e alginato. XXXVI Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados. Maceió, 2013.
- TOMADON JR, J. Obtenção da proteína sericina, com alta massa molecular, a partir de casulos *Bombyx mori*. Paraná: Universidade Estadual de Maringá, 2011. 172 p. Dissertação (Mestrado).
- ZHANG, Y. Q. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnology Advances*. v.20, p.91-100, 2002.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro, e à empresa BRATAC pelo fornecimento dos casulos.