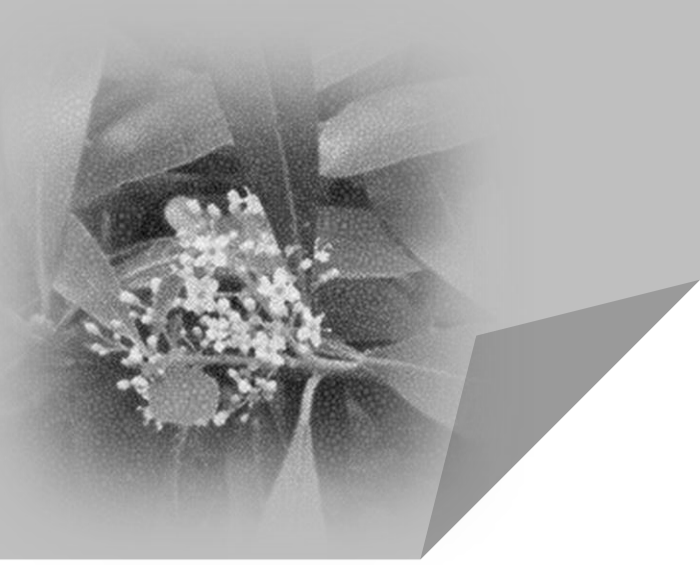


Solubilização de derivados azólicos utilizando saponinas de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (mate): efeito na atividade antifúngica



Vanessa Pittol, Fernanda Klein Silva, Samuel Kaiser, George González Ortega, Alexandre Fuentesfria
Faculdade de Farmácia - UFRGS

Introdução

A escassa solubilidade de determinados fármacos em água é um dos principais fatores que comprometem a sua atividade biológica. O desenvolvimento de estratégias tecnológicas que ajudem a contornar tal obstáculo tem sido objeto de diferentes estudos^{1,2}. Nesse contexto, a solubilização micelar surge como uma alternativa para aumentar a solubilização de fármacos pouco solúveis, resultando, também, em aumento da biodisponibilidade, redução da toxicidade, aumento da permeabilidade e aumento do tempo de residência no organismo^{1,3}. *Micelas* se originam da auto-associação de substâncias anfífilas, originando arranjos nanoestruturados caracterizados por um domínio hidrofóbico e outro lipofílico. Em meio aquoso, o interior (núcleo) da micela propicia condições favoráveis à solubilidade dessa categoria de fármacos^{1,2,3,4,5}. As saponinas de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (mate) exemplificam esse fenômeno, formando micelas complexas acima da concentração micelar crítica (**CMC**)⁶. Estudos *in vitro* demonstraram que a associação de uma fração de saponinas de frutos de mate (**FES**) com antifúngicos azólicos pode afetar a atividade destes. Antifúngicos azólicos (**AA**) constituem uma classe de fármacos de amplo uso, com mecanismos de ação e de resistência bem elucidados⁷. A resistência a AA tornou-se um problema relevante no tratamento de micoses, sendo constatado um sensível aumento de espectro de fungos patogênicos na prática clínica, sobretudo em pacientes imunodeficientes e imunossuprimidos^{7,8}.

Objetivo

Avaliar a solubilização micelar de fluconazol e cetoconazol utilizando frações específicas de saponinas de mate, visando estabelecer relações entre propriedades físico-químicas e a atividade antifúngica *in vitro*.

Metodologia

Fração Enriquecida em Saponinas (FES): uma quantidade apropriada do extrato de frutos de mate, obtido por maceração dinâmica, concentração e liofilização, foi fracionada em coluna de fase sólida utilizando resina polimérica, metanol e água como eluentes, em gradiente decrescente de polaridade⁹.

Solubilização Micelar: um excesso de fluconazol ou cetoconazol foi adicionado, separadamente, a soluções de saponina em diferentes concentrações. As amostras foram incubadas em banho-maria a 32 °C por 24 h, centrifugadas, filtradas e posteriormente analisadas por CLAE-PDA, conforme metodologia previamente publicada, com modificações^{6,10,11}. Os resultados obtidos foram correlacionados com dados de atividade antifúngica utilizando isolados clínicos.

Os dados obtidos foram ajustados pelo modelo não-linear de Morgan-Mercer-Flodin e linearizados para fins comparativos.

Resultados e Discussão

Resultados expressos utilizando modelo MMF linearizado: $\ln\left[\frac{(y-a)}{c-y}\right] = d \cdot \ln x - \ln b$

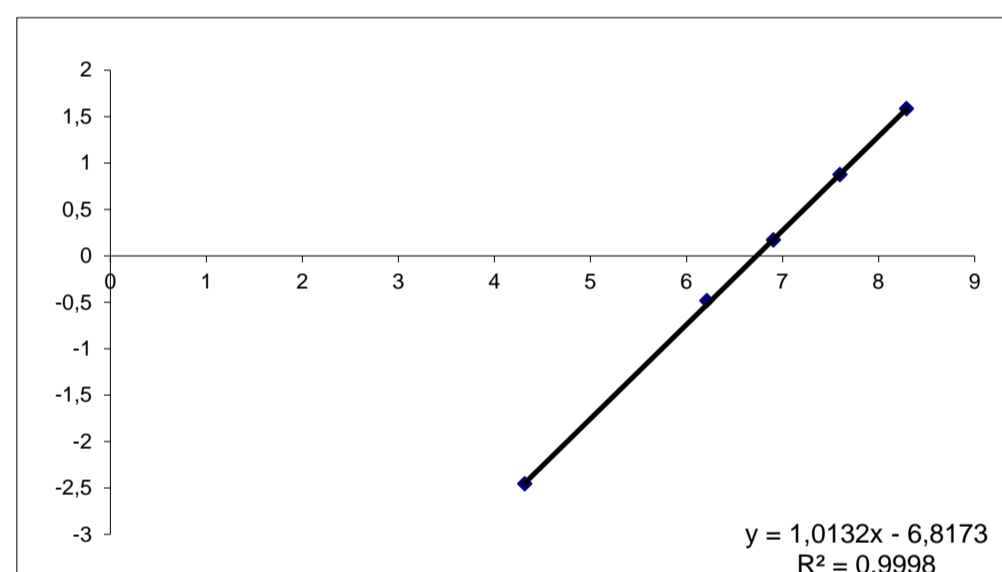


Figura 1: Gráfico de solubilização Fluconazol X FES em água.

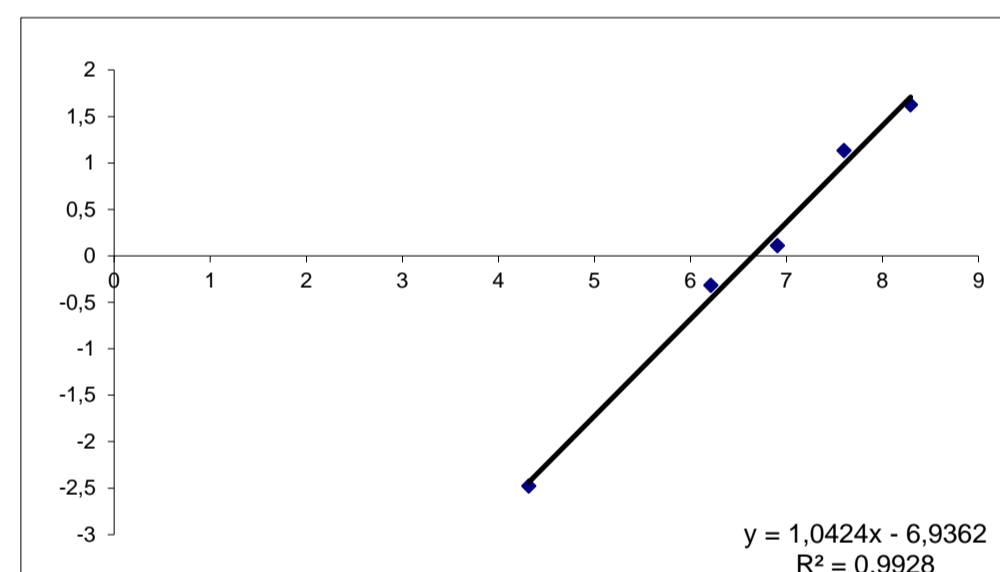


Figura 2: Gráfico de solubilização Fluconazol X FES em tampão MOPS.

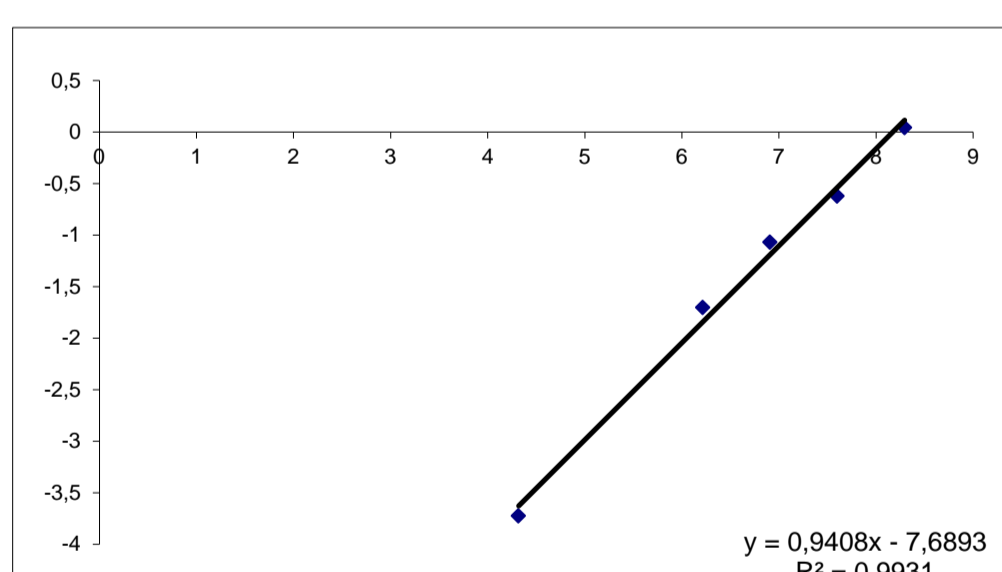


Figura 3: Gráfico de solubilização Cetoconazol X FES em água.

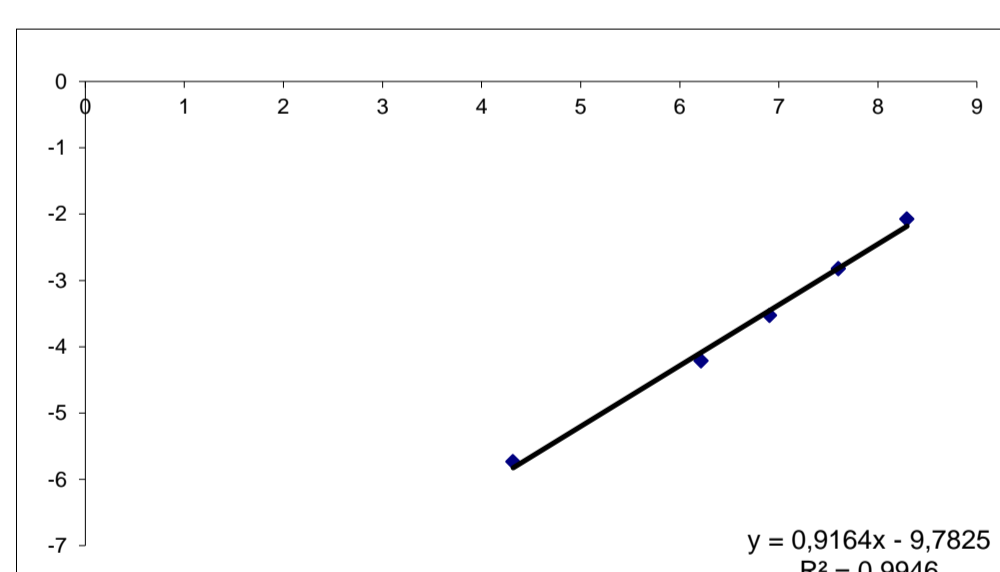


Figura 4: Gráfico de solubilização Cetoconazol X FES em tampão MOPS.

Tabela 1: Demonstração do efeito da associação da FES com Fluconazol no ensaio *in vitro*.

Cepa	Fluconazol	FES	Fluconazol + FES
<i>Candida krusei</i> Ck6258	Resistente	Resistente	Sensível
<i>Candida krusei</i> Ck02	Sensível	Resistente	Aumento da sensibilidade
<i>Candida krusei</i> Ck05	Sensível	Resistente	Aumento da sensibilidade
<i>Candida tropicalis</i> Ct72A	Sensível	Resistente	Aumento da sensibilidade
<i>Candida albicans</i> Ca76A	Sensível	Resistente	Aumento da sensibilidade

- A linearização das equações de ajuste por MMF permite a comparação direta da solubilização mediante comparação das inclinações calculadas;
- A qualidade dos ajustes da curva de concentração de fármaco solúvel em função da concentração de FES pôde ser constatada pelo valor de R²;
- Observou-se aumento da solubilidade tanto para Fluconazol (log P 1) quanto para Cetoconazol (log P 4,4), contudo o segundo demonstrou aumento mais acentuado devido à pouca solubilidade;
- A adição de tampão MOPS (ácido 3-(N-morfolino)-propanossulfônico) em pouco alterou o perfil de solubilidade dos antifúngicos;
- Conforme demonstrado na tabela acima, a associação de Fluconazol com a FES aumentou a susceptibilidade de algumas cepas ao fármaco e até mesmo reverteu a resistência de determinada cepa.

Conclusões e Perspectivas

Os resultados obtidos confirmam que agentes com características anfífilas possibilitam aumento da solubilidade de substâncias com limitada capacidade de solubilização em água. Também, pode-se verificar que esse aumento de solubilidade pode influenciar o desempenho do fármaco, sendo, nesse caso, favoravelmente. No entanto, são necessários ensaios adicionais, principalmente de avaliação da associação de Cetoconazol com a FES sobre a atividade antifúngica.

Referências

1. SEEDHER, N.; KANOJIA, M. **Micellar Solubilization of Some Poorly Soluble Antidiabetic Drugs: A Technical Note**. American Association of Pharmaceutical Scientists, v. 9, p. 431-36.
2. KOVÁCS, K.; STAMPF, G.; KLEBOVICH, I.; ANTAL, I.; LUDÁNYI, K. **Aqueous solvent system for the solubilization of azole compounds**. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 36, p. 352-358, 2009.
3. RANGEL-YAGUI, C. O.; HSU, W. L.; PESSOA-JR, A.; TAVARES, L. C. **Micellar solubilization of ibuprofen – influence of surfactant head groups on the extent of solubilization**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 41, 2005.
4. BLANKSCHTEIN, D.; THURSTON, G.M.; BENEDEK, G.B. **Phenomenological theory of equilibrium thermodynamic properties and phase separation of micellar solutions**. J. Chemical. Physics, v. 85, p.7268-7288, 1986.
5. MALL, S.; BUCKTON, G.; RAWLINS, D.A. **Dissolution behaviour of sulphamides into sodium dodecyl sulphate micelles: A thermodynamic approach**. Journal Pharmaceutical Science, v.85, p.75-78, 1996.
6. PEIXOTO, M. P. G.; TRETER, J.; RESENDE, P. E.; SILVEIRA, N. P.; ORTEGA, G. G.; LAWRENCE, M. J.; DREISS, C. A. **Wormlike micellar aggregates of saponins from *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (mate): A characterisation by cryo-TEM, rheology, light scattering and small-angle neutron scattering**. Journal Pharmaceutical Science, v. 100, p. 536-546, 2011.
7. VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. **Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections**. International Journal of Microbiology, P. 1-26, 2012.
8. PEREA, S.; PATTERSON, T. F. **Antifungal Resistance in Pathogenic Fungi**. Antimicrobial Resistance, v. 35, p. 1073-80, 2002.
9. PAVEL, C. **Desenvolvimento de métodos analíticos e tecnológicos aplicados à fração saponosídica presente nos frutos de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil.** Porto Alegre: UFRGS. Dissertação (Mestrado em Farmácia), 2004.
10. GORDIEN, J.-B.; PIGNEUX, A.; VIGOUROUX, S.; TABRIZI, R.; ACCOCEBERRY, I.; BERNADOU, J.-M.; ROUAULT, A.; SAUX, M.-C.; BREILH. **Simultaneous determination of five systemic azoles in plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 50, p. 932-938, 2009.
11. WATTANANAT, T.; AKARAWUT, W. **Validated HPLC method for the determination of fluconazole in human plasma**. Biomedical Chromatography, v. 20, p. 1-3, 2006.

Agradecimentos:

