

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA DE UMA NANOEMULSÃO CONTENDO QUERCETINA

**BOSCHERO, Raphael A.; HÄDRICH, Gabriela; SALGADO, Henrique Z.;
HALICKI, Priscila; COELHO, Tatiane; RAMOS, Daniela F.; BAISCH, Ana Luiza
M.; SILVA, Pedro E. A.; DORA, Cristiana L.;
r.boschero@gmail.com**

**Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Microbiologia Médica**

Palavras-chave: Tuberculose; quercetina; nanoemulsão.

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB), doença causada principalmente pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, é considerada um problema de saúde pública mundial, sendo a segunda maior causa de morte por doença infecciosa no mundo. O aumento de casos de pacientes infectados por cepas multi-fármaco resistentes, leva à necessidade do desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da TB. Uma substância promissora é a quercetina (QU), um flavonóide que apresenta diversas atividades biológicas, inclusive antimicrobiana. Entre as ferramentas biotecnológicas testadas atualmente para aprimorar o tratamento de diversas doenças, está a utilização de sistemas de nanocarreadores lipídicos para a entrega de medicamentos, visando o aumento da biodisponibilidade de fármacos no alvo e da eficácia terapêutica, além da diminuição do tempo de tratamento e dos efeitos colaterais. Desta forma, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicobacteriana da QU, de forma livre e encapsulada em nanoemulsão, frente à cepa pan-suscetível de *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O tratamento atual para a TB, preconizado pela Organização Mundial da Saúde, consiste na utilização de quatro antibióticos (isoniazida (INH), rifampicina (RIF), etambutol e pirazinamida) por dois meses, seguido de mais quatro meses com apenas INH e RIF (WHO, 2014). A longa duração do tratamento e seus efeitos tóxicos são fatores que dificultam a adesão por parte do paciente e o número restrito de medicamentos disponíveis para os casos de multi-fármaco resistência reforçam a necessidade de novas alternativas que ampliem o arsenal terapêutico disponível para a TB (DA SILVA & PALOMINO, 2011). A QU tem apresentado potencial de inibição do crescimento de micobactérias, através da interação com as enzimas DNA girase e isocitrato liase em *M.tuberculosis* (SHUKLA et al., 2015). Os principais problemas da eficácia terapêutica dessa substância são a sua baixa biodisponibilidade e solubilidade em água, entretanto, estudos anteriores demonstraram que as nanoemulsões são promissoras para veicular QU (DORA, 2011).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os nanocarreadores com QU foram produzidos através do método de difusão de solvente a quente associado a temperatura de inversão de fase (DORA, 2011). Em equipamento Zetasizer, o tamanho das partículas e o índice de polidispersão foram avaliados pelos métodos de espalhamento de luz dinâmico, enquanto o

potencial zeta foi avaliado por anemometria laser doppler. A análise do teor e recuperação da quercetina foram realizadas por espectroscopia UV/Vis (375 nm) com metodologia previamente validada. Foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) da QU livre e nanoencapsulada pelo método de microdiluição Resazurin Microtiter Assay (REMA) (PALOMINO et al., 2002), frente à cepa de *M. tuberculosis* H37Rv (ATTC 27294).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

O sistema desenvolvido apresentou tamanho médio de aproximadamente 20 nm, potencial zeta de -5,34 mV, em função de alguns de seus componentes (lecitina e polietilenoglicol) e manteve-se monodisperso (PDI<0,2). O teor de quercetina encontrado foi de 1,5 mg/mL com taxa de recuperação de aproximadamente 99%.

A avaliação da atividade antimicobacteriana frente ao *M. tuberculosis* indica que a QU livre atingiu CIM de >187,5 µg/mL enquanto a QU nanoencapsulada alcançou CIM de 25 µg/mL (composta por 17,8 µg/mL de QU, somado de 7,2 µg/mL de fração lipídica). A partir dos resultados obtidos pode-se inferir que a QU nanoencapsulada apresenta a menor CIM, ou seja, a maior ação de inibição. Este fato pode ser relacionado a maior solubilidade da QU quando incorporada em nanocarreadores e ao pequeno tamanho dos mesmos, que podem facilitar a sua entrada na célula. A maior parte da composição QU nanoencapsulada é representada pela fração de QU presente (17,8 µg/mL de QU em 25 µg/mL total), fortalecendo a hipótese da ação antimicobacteriana da QU. A QU na forma livre apresentou inibição em concentração cerca de 7 vezes maior do que a necessária quando na forma nanoencapsulada.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O nanocarreador contendo quercetina apresentou os melhores resultados de atividade antimicobacteriana frente ao modelo *M. Tuberculosis*, sendo 7 vezes maior do que a atividade observada com a quercetina na forma livre. Sendo assim, a encapsulação da quercetina em nanoemulsões parece ser uma promissora alternativa para tratamento de TB.

REFERÊNCIAS

- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2014). Global tuberculosis report. Publication no. 90. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- PALOMINO J C, MARTIN A, CAMACHO M, GUERRA H, SWINGS J, PORTAELS F. 2002. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 2720-2722.
- DA SILVA, P. E. A. & PALOMINO, J. C. (2011) Molecular basis and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: classical and new drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 66, p. 1417-1430.
- DORA CL, SILVA LFC, TAGLIARI MP, SILVA MAS, LEMOS-SENNA E. Formulation study of Quercetin-Loaded Lipid-Based Nanocarriers Obtained by Hot Solvent Diffusion Method. *Lat Am J Pharm* 2011;30(2):289–296.
- SHUKLA, H., KUMAR, V., SINGH, A. K., RASTOGI, S., KHAN, S. R., SIDDIQI, M. I., AKHTAR, M. S. (2015). Isocitrate lyase of *Mycobacterium tuberculosis* is inhibited by quercetin through binding at N-terminus. *International Journal of Biological Macromolecules*, 78, 137–41.