

QUANTIFICAÇÃO E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINA CONTENDO ÓLEOS DE ORIGEM VEGETAL

Gabriel Pedroso Vicozzi¹

Taiane Medeiro Ciocheta²

Eduardo Andre Bender³

Letícia Marques Colomé⁴

Resumo:

Em aspectos gerais, nanopartículas são definidas partículas coloidais sólidas, que incluem tanto nanocápsulas como nanoesferas. Onde seus tamanhos variam de 5-10nm com tamanho máximo de 1000nm, porém o tamanho médio dessas partículas fica em torno de 100-500nm. A utilização da curcumina como agente anticancerígeno vem sendo avaliada recentemente devido as suas propriedades de inibir a proliferação de algumas células cancerígenas conforme descrito em estudos, e também onde a mesma induziu a apoptose dessas células. Porém a curcumina apresenta alguns problemas de solubilidade aquosa, baixa biodisponibilidade e é suscetível a fotodegradação. Com isso a incorporação das mesmas em sistemas nanoparticulados é uma importante ferramenta para otimização deste fármaco e de sua melhora terapêutica. Assim foram preparadas duas formulações de curcumina contendo dois óleos vegetais, onde a primeira formulação foi nomeada NC1 e outra NC2, utilizando o método de precipitação do polímero pré-formado. Também foi realizada a leitura do tamanho de partícula das mesmas por meio das técnicas de difratometria de laser (Mastersizer 2000, Malvern®) e de espalhamento de luz dinâmico (NanoBrook 90Plus Zeta - Brookhaven Instruments). Por último foi realizada a quantificação das partículas seguindo a RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Para isso, utilizamos um cromatógrafo Prominence Shimadzu utilizando detector ultravioleta em 425nm, Coluna C18 com tamanho de 12cm, fase móvel contendo água acidificada até pH 3 + acetonitrila + metanol (43%, 52%, 5%, respectivamente). O tempo de corrida foi de 15 minutos e o fluxo de 1mL/min. Além disso, aplicamos um volume de injeção de 20L. Na sequência foi realizada a taxa de encapsulação realizado pela técnica de ultrafiltração-centrifugação com uma formulação de concentração conhecida de 0,5mg/ml. Desta forma, a mesma foi submetida a processo de centrifugação em eppendorf Ultrafree® colocando 400g da formulação, e usando uma centrifuga por 5 minutos a 50000rpm foi extraído a parte não encapsulada. Após este processo foi coletado o volume filtrado e o mesmo foi analisado em CLAE. O tamanho médio das duas formulações ficou por volta de 200nm em ambas as metodologias utilizadas. Para o doseamento uma solução mãe do fármaco foi preparada em uma concentração de 0,5 mg e a partir desta foram realizadas diluições da mesma nas concentrações de 1; 5; 10; 15; 20; 25, g/mL do fármaco,

sendo assim estes os pontos da curva analítica analisados. O mesmo se demonstrou adequado sendo 90,1% para NC2 e 75,3% para NC1. Por último como resultado de taxa de encapsulação das formulações foram de NC1 81,7% e NC2 95,5%. Com este trabalho pode-se perceber que o uso da nanotecnologia em conjunto com a curcumina é uma alternativa para aperfeiçoar a terapêutica desta. Desta forma, as formulações contendo curcumina demonstraram um tamanho reduzido. Além disso, ambas, NC1 e NC2 mostraram-se adequadas, tendo valores obtidos para o doseamento e de taxa de encapsulação da curcumina bastante aceitáveis. Estes resultados mostraram-se promissores para a continuidade do trabalho, os quais deverão envolver a avaliação do potencial anticâncer em cultura celular.

Palavras-chave: Nanotecnologia, Curcumina, óleos vegetais, HPLC

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

QUANTIFICAÇÃO E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINA CONTENDO ÓLEOS DE ORIGEM VEGETAL

¹ Aluno de graduação. gabrie.vicozzi@gmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. taianeciocheta@gmail.com. Co-autor

³ Docente. eduardobender@unipampa.edu.br. Orientador

⁴ Docente. lecolome@gmail.com. Co-orientador



QUANTIFICAÇÃO E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINA CONTENDO ÓLEOS DE ORIGEM VEGETAL

1. INTRODUÇÃO

Em aspectos gerais, nanopartículas são definidas partículas coloidais sólidas, que incluem tanto nanocápsulas como nanoesferas. Onde seus tamanhos variam de 5–10nm com tamanho máximo de 1000nm, porém o tamanho médio dessas partículas fica em torno de 100–500nm (Quintanar-Guerrero, Allemann *et al.* 1998).

Segundo vários autores, sistemas nanoparticulados podem ser usados como sistemas de liberações de substâncias ou como vetores em diversas terapias (Cruz *et al.* 2006). E dependendo da composição dos mesmos essa vetorização pode ser ainda mais otimizada (ANTONOW, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2010).

As nanoesferas são assim chamadas quando a substância encapsulada está retida ou adsorvida em uma matriz polimérica sem a presença do núcleo lipídico. Já as nanocápsulas apresentam um núcleo oleoso que está envolto por uma matriz polimérica podendo o fármaco estar dissolvido no núcleo ou adsorvido a parede da matriz (Schaffazick *et al.*, 2003).

As nanocápsulas destacam-se em relação as nanoesferas devido ao fato de possuírem elevada capacidade de encapsular substâncias e desta forma aumentar o índice terapêutico, e consequentemente, reduzir a toxicidade do fármaco (Guterres *et al.*, 2007).

A utilização da curcumina como agente anticancerígeno vem sendo avaliada recentemente devido as suas propriedades de inibir a proliferação de algumas células cancerígenas conforme descrito em estudos (Fu *et al.* 2017), e também onde a mesma induziu a apoptose dessas células.

Porém a curcumina apresenta alguns problemas de solubilidade aquosa, baixa biodisponibilidade e é suscetível a fotodegradação. Com isso a incorporação das mesmas em sistemas nanoparticulados é uma importante ferramenta para otimização deste fármaco e de sua melhora terapêutica.

2. METODOLOGIA

Foram preparadas duas formulações de curcumina contendo dois óleos vegetais, onde a primeira formulação foi nomeada NC1 e outra NC2, utilizando o método de precipitação do polímero pré-formado de acordo com Fessi *et al.* (1988).

Também foi realizada a leitura do tamanho de partícula das mesmas por meio das técnicas de difratometria de laser (Mastersizer 2000, Malvern®) e de espalhamento de luz dinâmico (NanoBrook 90Plus Zeta - Brookhaven Instruments).

Por último foi realizada a quantificação das partículas seguindo a RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Para isso, utilizamos um cromatógrafo Prominence Shimadzu utilizando detector ultravioleta em 425nm, Coluna C18 com tamanho de 12cm, fase móvel contendo água acidificada até pH 3 + acetonitrila + metanol (43%, 52%, 5%, respectivamente). O tempo de corrida foi de 15 minutos e o fluxo de 1 mL/min. Além disso, aplicamos um volume de injeção de 20 µL.

Na sequência foi realizada a taxa de encapsulação realizado pela técnica de ultrafiltração-centrifugação com uma formulação de concentração conhecida de 0,5mg/mL. Desta forma, a mesma foi submetida a processo de centrifugação em

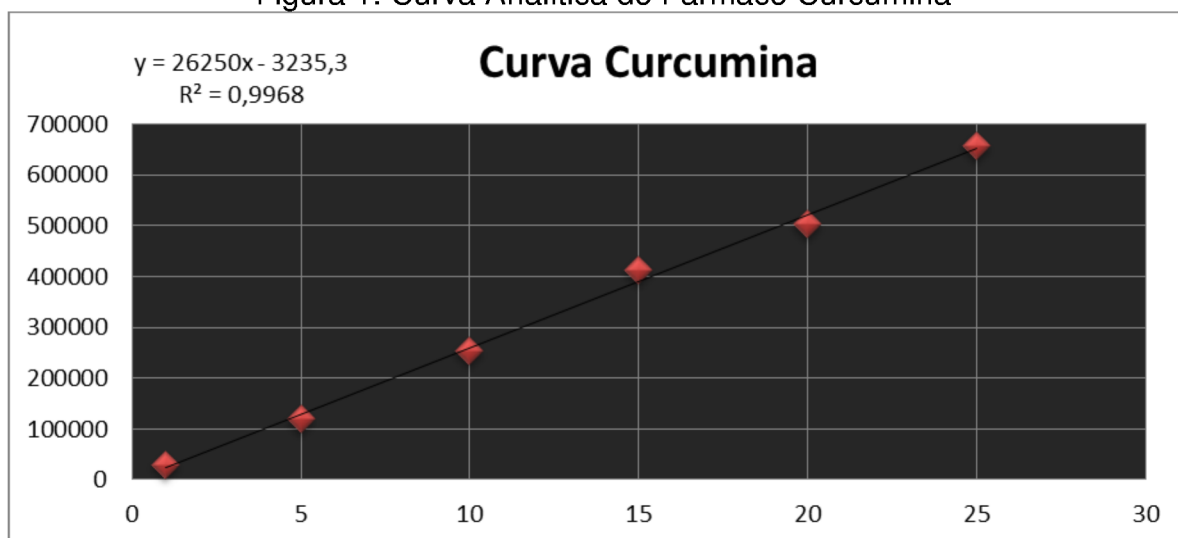
eppendorf Ultrafree® colocando 400µg da formulação, e usando uma centrífuga por 5 minutos a 50000rpm foi extraído a parte não encapsulada. Após este processo foi coletado o volume filtrado e o mesmo foi analisado em CLAE.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

O tamanho médio das duas formulações ficou por volta de 200nm em ambas as metodologias utilizadas. Isso demonstrou também que as partículas tinham um estreito tamanho nanométrico, uma vez que, o valor da polidispersão era bastante estreito. Isso nos mostra que a formulação tem um tamanho adequado, já que não está muito próxima do tamanho micrométrico de 1000nm, sendo assim possível utilizar essa formulação em experimentos futuros.

Para o doseamento uma solução mãe do fármaco foi preparada em uma concentração de 0,5 mg e a partir desta foram realizadas diluições da mesma nas concentrações de 1; 5; 10; 15; 20; 25, µg/mL do fármaco, sendo assim estes os pontos da curva analítica analisados. Observamos na Figura 1 que o R^2 foi: 0,9968. Portanto, foi adequado e linear e permitiu assim ser utilizado para o doseamento da curcumina quando encapsulada.

Figura 1. Curva Analítica do Fármaco Curcumina



Na tabela abaixo (Tabela 1) mostra os valores de doseamento. Com isso, para o doseamento do fármaco, foi realizado utilizando um ponto médio da curva, e assim injetado 100 µL das formulações NC1 e NC2 dissolvidos em acetonitrila e filtrados para um *vial*. O resultado do doseamento foi de 90,1% para NC2 e 75,3% para NC1. Para isto, utilizamos a equação da reta em relação à concentração teórica do fármaco encapsulado. Esses valores podem assim demonstrar que mesmo com tamanho reduzido as formulações conseguem ainda sustentar uma concentração adequada do fármaco.

Tabela 1: Dados de doseamento das formulações.

Formulação	Doseamento %
NC1	75,3%
NC2	90,1%

Por ultimo como resultado de taxa de encapsulação das formulações está descrita na tabela 2 onde se pode observar que ambas as formulações obtiveram uma taxa adequada, porem a da NC2 apresentou um melhor encapsulamento, que a NC1. Este resultado provavelmente se dá pelo fato de que o óleo utilizado nesta formulação interage melhor com a curcumina do que o utilizado na NC1, permitindo assim que uma maior fração do fármaco permaneça solúvel no núcleo oleoso da partícula, tendo assim uma maior encapsulação.

Tabela 2: Taxa de encapsulação das formulações.

Formulação	Encapsulação %
NC1	81,7%
NC2	95,5%

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este trabalho pode-se perceber que o uso da nanotecnologia em conjunto com a curcumina é uma alternativa para aperfeiçoar a terapêutica desta. Desta forma, as formulações contendo curcumina demonstraram um tamanho reduzido. Além disso, ambas, NC1 e NC2 mostraram-se adequadas, tendo valores obtidos para o doseamento e de taxa de encapsulação da curcumina bastante aceitáveis. Estes resultados mostraram-se promissores para a continuidade do trabalho, os quais deverão envolver a avaliação do potencial anticâncer em cultura celular.

5. REFERÊNCIAS

Antonow, M.B. Desenvolvimento tecnológico e avaliação dos perfis de liberação in vitro de suspensões contendo nanocápsulas de desonida com diferentes polímeros. Dissertação de Mestrado. Centro Universitário Franciscano. Santa Maria, 2012.

Cruz, L., Soares, L. U., Costa, T. D., Mezzalira, G., da Silveira, N. P., Guterres, S. S., & Pohlmann, A. R. (2006). Diffusion and mathematical modeling of release profiles from nanocarriers. *Int J Pharm*, 313(1-2), 198-205. doi: 10.1016/j.ijpharm.2006.01.035

Fu, H., Wang, C., Yang, D., Zhang, X., Wei, Z., Zhu, Z., Xu, J., Hu, Z., Zhang, Y., Wang, W., Yan, R., Cai, Q. (2017). Curcumin regulates proliferation, autophagy and apoptosis in gastric cancer cells by affecting PI3K and P53 signaling. Department of Gastrointestinal Surgery, Shanghai Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, P.R. China doi: 10.1002/jcp.26190

Guterres, S. S., Alves, M. P., & Pohlmann, A. R. (2007). Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. *Drug Target Insights*, 2, 147-157.

Quintanar-Guerrero, D., Allemann, E., Doelker, E., & Fessi, H. (1998). Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharm Res*, 15(7), 1056-1062.

Resolução da Diretoria Colegiada - *RDC nº 166*, de 24 de julho de 2017.

Schaffazick, S. R., Pohlmann, A. R., Dalla-Costa, T., & Guterres, S. S. (2003). Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study. *Eur J Pharm Biopharm*, 56(3), 501-505.