

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E LIBERAÇÃO IN VITRO DA CURCUMINA A PARTIR DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Kelly Ayumi Nakama¹

Renata Bem do Santos²

André Gundel³

Sandra Elisa Haas⁴

Resumo:

A Curcumina (CUR) é o composto majoritário da Curcuma Longa, que apresenta diversas atividades biológicas, como propriedades antiinflamatórias e anti-neoplásicas, porém seu uso é limitado pela suas características físico-químicas, como instabilidade frente a luz, baixa solubilidade aquosa e baixa biodisponibilidade. Para contornar estes problemas pode-se fazer uso da nanobiotecnologia, que permite o aumento da biodisponibilidade e da solubilidade, além da possibilidade da utilização de diferentes tipos de revestimentos. Este trabalho teve como objetivo a caracterização e estabilidade físico-química e o estudo da liberação in-vitro de nanopartículas contendo CUR com diferentes revestimentos, onde a caracterização físico-química e a avaliação de estabilidade se deu pela análise do tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, pH, doseamento e taxa de encapsulação nos dias 0, 10 e 60. A avaliação da morfologia das nanopartículas (NPs) foi realizada através da microscopia de força atômica, a distribuição das NPs nas pseudo-fases das nanocápsulas foi realizada seguindo o logaritmo criado por Oliveira e colaboradores (2012) e a liberação foi efetuada através do método dos sacos de diálise, em 3 diferentes meios. As formulações apresentaram diâmetro entre 118 e 261 nm e índice de polidispersão menor que 2, na qual se mostraram estáveis no decorrer do tempo, com $p > 0,05$. O pH das formulações obteve valores entre 4,3 e 5,2 e o potencial zeta foi de -27 a 34. Todas as formulações apresentaram formatos esféricos. A classificação da distribuição nas pseudo-fases é a VI e quanto a liberação foi observado a maior porcentagem de liberação no meio orgânico. A partir deste estudo pode-se observar que as NPs com diferentes tipos de revestimento apresentaram tamanho nanométrico, índice de polidispersão adequado e controle da liberação da substância encapsulada.

Palavras-chave: Curcumina, nanopartículas

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E LIBERAÇÃO IN VITRO DA CURCUMINA A
PARTIR DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS**

¹ Aluno de graduação. kellyayumi29@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. renatabemss@gmail.com. Co-autor

³ Docente. gundel@gmail.com. Co-autor

⁴ Docente. sandra.haas@gmail.com. Orientador

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E LIBERAÇÃO *IN VITRO* DA CURCUMINA A PARTIR DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

1 INTRODUÇÃO

Compostos naturais vêm sendo extensivamente explorados para o tratamento de diversas patologias, dentre eles a curcumina (CUR) que é um composto polifenólico sendo o produto majoritário da *Curcuma longa* L., na qual apresenta diversos efeitos biológicos, tais como a atuação contra fungos e bactérias, efeito anti-inflamatório, antiparasitário (Gomes, *et al.*, 2017; Velasques *et al.*, 2018), além de ter um potencial antineoplásico (Heger *et al.*, 2013; Allegra *et al.*, 2016; Soleimani *et al.*, 2018).

O uso terapêutico da CUR ainda é limitado pelas suas características físico-químicas, dentre elas a baixa solubilidade aquosa e baixa disponibilidade além de apresentar instabilidade frente à exposição luminosa e a determinadas condições de pH. Os carreadores coloidais, como as nanopartículas (NPs), são utilizadas para contornar estes problemas, já que vários estudos demonstraram melhorias nos parâmetros farmacocinéticos, na liberação, *delivery* e das características físico-químicas do fármaco, proporcionando o aumento da eficácia do fármaco nanoencapsulado (CABAN, *et al.*, 2014; VIEIRA, *et al.*, 2016).

Sistemas nanoparticulados permitem o uso de diferentes polímeros, possibilitando a alteração das propriedades de superfície das NPs com o objetivo de manter o fármaco por mais tempo no organismo, melhorar a sua permeação e até mesmo propiciar melhor aderência em mucosas. O PEG é um polímero hidrofílico, de baixa toxicidade e quimicamente inerte, na qual possui a capacidade de reduzir o reconhecimento das NPs pelo sistema fagocitário (Kelley, *et al.*, 2018). Outro polímero bastante utilizado é o P8, na qual possui um caráter anfifílico que diminui a tensão superficial entre as células e as NPs melhorando a permeação destes.

Pode-se também utilizar polímeros de carga oposta aos tecidos com característica catiônica, permitindo a utilização de suas propriedades mucoadesivas (Chaves, *et al.*, 2018). A quitosana (CS) é um polímero de origem natural, possui carga positiva, é mucoadesiva, biodegradável e biocompatível (Tian, *et al.*, 2018).

Este trabalho tem como objetivo a caracterização físico-químico e a morfologia das NPs com diferentes revestimentos e avaliar a liberação *in vitro* da CUR em diferentes meios.

2 METODOLOGIA

As NPs foram preparadas a partir do método de nanoprecipitação (Jager, 2009), na qual foram desenvolvidas formulações com diferentes revestimentos, onde duas são catiônicas e duas são aniônicas. O preparo das NPs F1, F2, F3 e F4 foi realizado a dissolução do tensoativo, óleo, polímero e CUR em solvente orgânico, na qual foi mantida em constante agitação à 37°C, a fase aquosa foi preparada a partir da dissolução de um tensoativo anfifílico em água destilada em constante agitação a temperatura ambiente (25°C). Após a completa solubilização das fases, verteu-se a fase orgânica na aquosa sob constante agitação, posteriormente evaporou-se a suspensão com o auxílio de um evaporador rotatório, obtendo-se o volume final de 10 mL.

A caracterização físico-química e a avaliação de estabilidade das nanocápsulas se deu pela análise do tamanho de partícula e o índice de polidispersão determinados através de dois métodos, sendo eles a difratometria a laser e espalhamento de luz dinâmica, também foi analisado o potencial zeta, pH, doseamento e taxa de encapsulação nos dias 0, 10, 30 e 60.

A morfologia das amostras foi avaliada através de microscopia de força atômica (MFA). As imagens de MFA foram realizadas em temperatura ambiente, no modo não-

contato, utilizando uma sonda de alta resolução SSS-NCL (Nanosensor, força constante= 48 N/m, frequência de ressonância = 154 kHz). Para as análises, as amostras foram diluídas em água MilliQ (1:50) e foram fixadas sobre o substrato de mica clivada até sua secagem completa. Após 24 horas do preparo, foram realizadas as análises.

Para a avaliação da distribuição foi utilizado o algoritmo proposto por Oliveira e colaboradores (2012), as NPs foram diluídas em água ultrapurificada, centrifugadas utilizando filtros Ultrafree® a 5000 rpm por 10 minutos a 4°C, o ultrafiltrado foi coletado e analisado através do método de Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD), com um método previamente validado.

O experimento de liberação da CUR foi realizado utilizando o método dos sacos de diálise. Foram utilizados três diferentes meios M1, M2, M3. Os sacos de diálise foram submersos nos meios de liberação, mantidos sob agitação magnética a 37°C em banho-maria. Foram retirados 2 ml de meio em tempos pré-determinados, sendo posteriormente reposto o volume coletado. As amostras foram analisadas em espectrômetro UV-visível. O experimento teve duração de 72h.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

As formulações apresentaram diâmetro entre 118 e 261 nm e o índice de polidispersão menor que 2, na qual mostraram-se estáveis no decorrer do tempo, com $p > 0,05$. A única que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) em relação às demais, foi a F4 por possuir um tamanho de partícula menor, que pode ser explicado pela composição diferente das outras formulações. As NPs apresentaram pH levemente ácido apresentando valores entre 4,3 e 5,2. A F1 e a F4 apresentaram diferença significativa após 60 dias, havendo uma redução do pH, enquanto que a F3 e a F2 apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para os dias 30 e 60. Essas alterações do pH podem ser indicadoras da degradação do polímero e do fármaco. O potencial zeta apresentou valores entre -27 a 34. Quando compara-se o potencial zeta das formulações catiônicas e aniônicas, as mesmas demonstram certa estabilidade, havendo alteração apenas no dia 60 em relação aos demais. O doseamento das formulações mostrou-se estável no decorrer do tempo para as formulações, sendo apenas a F2 a apresentar diferença significativa ($p < 0,05$) no dia 60 em relação ao dia 0.

A morfologia das NPs foi analisada através do método de MFA, na qual a F1 e F2 apresentaram homogeneidade em relação ao formato e estruturas, apresentando partículas com formato esférico e tamanhos regulares, condizente com os resultados obtidos na análise do índice de polidispersão, enquanto as F3 e F4 demonstraram formas irregulares.

O algoritmo desenvolvido por Oliveira *et al* (2012) realiza algumas perguntas, que a partir delas, será determinada a maneira de distribuição do fármaco na formulação. Sendo assim, a primeira pergunta é referente ao tipo de partículas presente. As mesmas devem ser exclusivamente nanométricas, caso contrário, maiores estudos deverão ser realizados, já que o algoritmo é para formulações nanométricas. Como a resposta foi sim para as formulações analisadas, a próxima pergunta é se o composto é detectado no ultrafiltrado sem diluição. A resposta é não. Então, após diluição 1:100, mais de 50% do composto é detectado no ultrafiltrado? Não. Isso leva à próxima pergunta, se após diluição 1:1000, 100% do composto é detectado no ultrafiltrado? Também não. Então o tipo de distribuição para todas as formulações é o VI, onde o composto está uniformemente distribuído na nanopartícula.

No estudo de liberação houve maior liberação da CUR, de aproximadamente 100 % no meio com maior teor de solvente orgânico. O aumento do teor de água no meio diminuiu a solubilidade da CUR e a sua liberação. Foi possível observar que as NCs controlaram a liberação da CUR.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir deste estudo pode-se observar que as NPs com diferentes tipos de revestimento apresentaram tamanho nanométrico e índice de polidispersão adequado. As formulações se mostraram estáveis ao longo do tempo, e todas se enquadram no tipo VI no algoritmo de distribuição nas pseudo-fases das NPs. A liberação da CUR foi de quase 100% no meio mais orgânico, enquanto nos meios com pH modificado a liberação observada foi menor.

REFERÊNCIAS

ALLEGRA, Alessandro et al. Anticancer activity of curcumin and its analogues: Preclinical and clinical studies. **Cancer investigation**, v. 35, n. 1, p. 1-22, 2017.

CABAN, S.; AYTEKIN, E.; SAHIN, A.; CAPAN, Y. Nanosystems for drug delivery. **OA Drug Design & Delivery**, v. 2, n. 1, 2014.

CHAVES, Paula Dos Santos et al. Mucoadhesive Properties of Eudragit® RS100, Eudragit® S100, and Poly (ϵ -caprolactone) Nanocapsules: Influence of the Vehicle and the Mucosal Surface. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 4, p. 1637-1646, 2018.

GOMES, Graziela Scheuer et al. Optimization of curcuma oil/quinine-loaded nanocapsules for malaria treatment. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 2, p. 551-564, 2018.

HEGER, Michal et al. The molecular basis for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin and its metabolites in relation to cancer. **Pharmacological reviews**, v. 66, n. 1, p. 222-307, 2014.

KELLEY, William J. et al. PEGylation of model drug carriers enhances phagocytosis by primary human neutrophils. **Acta Biomaterialia**, 2018.

OLIVEIRA, C. P.; VENTURINI, C. G.; DONIDA, B.; POLETTO, F. S.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. An algorithm to determine the mechanism of drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations. **Soft Matter**, v. 9, p. 1141, 2012.

SOLEIMANI, Vahid; SAHEBKAR, Amirhossein; HOSSEINZADEH, Hossein. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 6, p. 985-995, 2018.

TIAN, Mei-Ping et al. Inducing sustained release and improving oral bioavailability of curcumin via chitosan derivatives-coated liposomes. **International journal of biological macromolecules**, 2018.

VELASQUES, Kelle et al. Co-nanoencapsulation of antimalarial drugs increases their in vitro efficacy against *Plasmodium falciparum* and decreases their toxicity to *Caenorhabditis elegans*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 118, p. 1-12, 2018.

VIEIRA, S. M.; MICHELS, L. R.; ROVERSI, K.; METZ, V. G.; MORAES, B. K.; PIEGAS, E. M.; FREDDO, R. J.; GUNDEL, A.; COSTA, T. D.; BURGER, M. E.; COLOME, L. M.; HAAS, S. E. A surface modification of clozapine-loaded nanocapsules improves their efficacy: A study of formulation development and biological assessment. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 145, p. 748-756, May 25 2016.