

OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CARREGADAS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS MARROM DE UNIÃO DOS PALMARES

Monique A. V. Nova^{1*}, Lucas R. O. Silva¹, Matheus V. G. Melo¹, Emanuel G. S. Junior², João V. L. Oliveira², Ariana S. Santos², Clinston P. Almeida³, Arthur L. T. F. Borges⁴, Ticiano G. Nascimento⁵

1. Graduando (a) em farmácia do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF) da UFAL
2. Mestrando (a) em Ciências Farmacêuticas da UFAL
3. Doutorando em andamento em MATERIAIS da UFAL
4. Doutorando em Biotecnologia (RENORBIO) da UFAL
5. Professor (a) Doutor (a) do Instituto de Ciências Farmacêuticas da UFAL/Orientador

Resumo

A nanotecnologia facilita a aplicação de substâncias na medicina através de nanocarreadores que melhoram a biodisponibilidade destas no organismo como também sua estabilidade, pois os compostos podem sofrer influência do meio e ter instabilidade química e pouco aproveitamento em sua forma livre e com isso a perda das características farmacológicas. Com isso, o presente trabalho propôs a obtenção de nanopartículas contendo extrato de própolis marrom da região do município de União dos Palmares-AL (PMUP) em várias concentrações de extrato, sendo efetuada a caracterização físico-química das amostras por FTIR e como análise térmica as técnicas de TGA e DSC e atividade antioxidante por DPPH. Os resultados mostraram a capacidade antioxidante dos extratos encapsulados pela matriz polimérica, assim como uma certa estabilidade térmica observada nas análises térmicas. Além disso, verificou-se através de FTIR a presença de compostos fenólicos e a encapsulação do extrato pelo matriz polimérica.

Palavras-chave: Nanocarreador; Biodisponibilidade; Antioxidante.

Apoio financeiro: Edital 05/2019 PRPI/IFAL – Edital de Inovação do IFAL.

Trabalho selecionado para a JNIC: UFAL.

Introdução

A nanotecnologia vem sendo amplamente aplicada para diversos fins, sendo a medicina uma das áreas onde observa-se um grande potencial utilitário através do uso de nanopartículas. As nanopartículas surgiram na década de 90 e possuem diversas aplicabilidades, dentre elas diagnósticos de imagem e tratamento de doenças como câncer. Elas podem promover uma entrega mais efetiva de medicamento otimizando a terapêutica, visto que ela pode evitar a degradação do fármaco antes da chegada em seu local de ação e com isso evitar a redução de sua eficácia (HADINOTO; SUNDARESAN; CHEOW, 2013).

Por se tratarem de estruturas muito pequenas, as nanopartículas possuem uma maior facilidade de atravessar diversos tecidos e células, podendo passar por estruturas mais seletivas como a barreira hematoencefálica otimizando a atuação dos medicamentos (JONG; PAUL, 2008). Os nanocarreadores podem ser compostos de metal, como ouro ou prata, nanotubos de carbono e também polímeros e lipossomas, sendo estas últimas muito utilizadas devido ao seu alto poder de manutenção da estabilidade das substâncias que estão sendo carregadas (DO NASCIMENTO et al., 2016).

A própolis é utilizada por diversas partes do mundo desde a antiguidade devido às suas amplas características farmacológicas que permitem ação antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (GONZÁLEZ-MASÍS et al., 2020). A própolis é uma substância resinosa feita pelas abelhas através da colheita da seiva da vegetação junto com as enzimas salivares desses animais e tem por finalidade a proteção da colmeia. Por se tratar de uma resina cerosa, há uma dificuldade da própolis em atravessar meios aquosos, ou seja, possui baixa solubilidade em água sendo então interessante a aplicabilidade de nanopartículas poliméricas como carreadores desse produto natural em sistemas vivos, visando a estabilidade e eficácia terapêutica do composto (DE MÉLO SILVA et al., 2020).

Metodologia

Foram utilizadas diferentes amostras da própolis marrom, sendo fornecida do Apiário Pindoba/AL a própolis do mês de outubro de 2019 e do Apiário de Branquinha/AL dos meses de dezembro de 2019, janeiro, fevereiro e setembro de 2020. Para a obtenção das nanopartículas foi utilizado tanto o extrato bruto da própolis marrom como o extrato purificado obtido através da metodologia de partição.

Foram preparadas duas composições de nanopartículas contendo extrato bruto da própolis marrom de dezembro de 2019 utilizando a matriz polimérica de policaprolactona (PCL) – Pluronic. A composição 1 (NP 1) que apresentou de 30% do extrato bruto e a composição 2 (NP 2) apresentou 40%. Também foram preparadas

mais duas composições de nanopartículas, sendo a composição 3 (NP 3) contendo extrato bruto da própolis marrom de outubro de 2019 e a composição 4 (NP 4) contendo a fração diclorometano do mesmo extrato, ambas utilizando (PCL) – Pluronic e com 40% de extrato. As amostras foram centrifugadas a uma velocidade de rotação de 3000 rpm durante 15 minutos para obtenção de um pellet sólido. O sobrenadante foi descartado e as nanopartículas precipitadas foram postas em frascos de vidro, transferidas para o freezer a -20°C por 72 horas, depois submetidas à liofilização por 24 horas para obtenção de um pó seco.

Para determinação da atividade antioxidante dos extratos e nanopartículas de própolis marrom, foi realizada a metodologia de sequestro de radicais livres (DPPH 2,2- Difenil-1-Picril-Hidrazila) em diferentes concentrações das amostras. Foi adicionado às amostras 2 mL da solução de DPPH e complementado com etanol absoluto totalizando volume de 5mL. A reação foi iniciada e as amostras armazenadas ao abrigo da luz por 30 minutos até a leitura pelo espectrofotômetro. Também foi realizada a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), com faixa de comprimento de onda entre 4000 a 600 cm^{-1} , 64 scans para verificar a presença de grupos funcionais presentes na estrutura das amostras.

A análise termogravimétrica (TG) do extrato de própolis marrom e das nanopartículas contendo extrato de própolis marrom foi realizada em um analisador termogravimétrico TGA-SHIMADZU para analisar a perda ou a agregação de massa à amostra em temperaturas variadas. O peso inicial foi estabilizado a 25°C com curva de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 900°C . A análise calorimétrica diferencial (DSC) foi realizada para as amostras em um calorímetro modelo DSC-60 da Shimadzu, onde foram pesadas em um cadinho de alumínio hermeticamente fechado. A taxa de aquecimento foi de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ na faixa de temperatura de 25 a 600°C sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL min^{-1} , a técnica mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo.

Resultados e Discussão

Pode-se observar no gráfico representado pela figura 1, que os resultados obtidos pelo sequestro do radical DPPH em relação aos extratos brutos da própolis marrom seguiram um resultado diretamente proporcional de acordo com as concentrações dos extratos, quanto maior a concentração, maior a capacidade antioxidante da amostra testada. Contudo, nota-se que as amostras decorrentes dos meses de dezembro de 2019 e outubro de 2019 se mostraram promissoras na atividade antioxidante frente ao sequestro do radical DPPH.

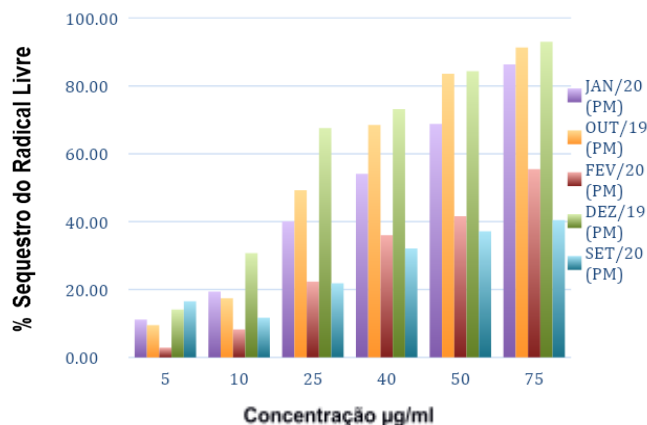


Figura 1. Gráfico do percentual de atividade antioxidante em função da concentração dos extratos da própolis marrom (PM) para os meses de outubro e dezembro de 2019 e janeiro, fevereiro e setembro de 2020.

No gráfico representado pela figura 2, pode-se observar os resultados obtidos pelo sequestro do radical DPPH em relação às duas amostras do extrato da própolis marrom referente ao mês de outubro de 2019, após a metodologia de partição para obtenção de maior pureza da amostra. A fase diclorometano se mostrou com maior caráter antioxidante em relação a fase diclorometano acidificada e em relação ao extrato bruto.

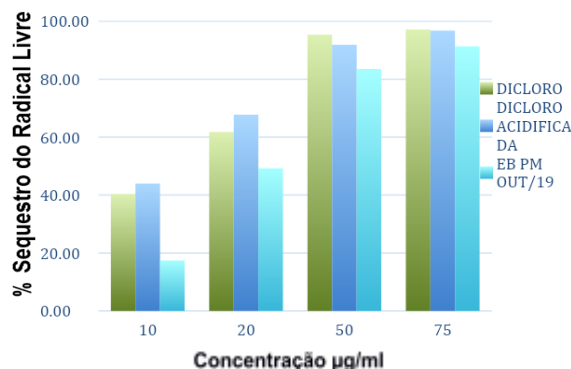


Figura 2. Gráfico do percentual de atividade antioxidante em função da concentração dos extratos da própolis marrom resultante da metodologia de partição para o mês de outubro de 2019.

No gráfico representado pela figura 3A, pode-se observar que os resultados obtidos pelo sequestro do radical DPPH em relação às duas composições das nanopartículas de própolis marrom de dezembro de 2019 (NP1 e NP2), tiveram propriedades antioxidantes, sendo a NP2 a de melhor resultado.

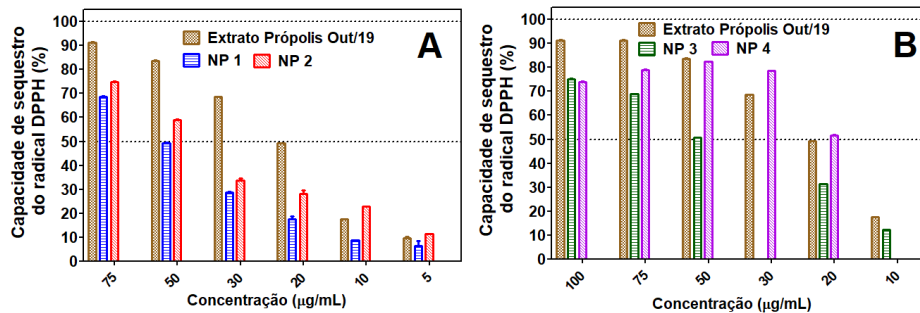


Figura 3. Gráfico do percentual de atividade antioxidante em função da concentração dos extratos da própolis marrom (PM) nas nanopartículas para o mês de dezembro de 2019 (A) e para as nanopartículas do mês de outubro de 2019 (B).

A figura 3B mostra o sequestro do radical DPPH com as amostras NP3 e NP4 onde NP4 teve melhor atividade antioxidante com valor de IC50 próximo a 20µg/mL. Seguido, têm-se NP2 com IC50 de 45 µg/mL, enquanto NP1 e NP3 apresentaram valor de IC50 de 50 µg/mL, acredita-se que por sedimentação do material durante o processo de preparação. A amostra NP4 apresentou melhor resultado IC50 por conta da etapa de enriquecimento do extrato antes da preparação, minimizando os efeitos de sedimentação durante a preparação.

O espectro do FTIR do extrato de PMUP, ilustrado na figura 4, mostrou bandas de hidroxilas fenólicas (OH) (3250-3260 cm⁻¹), bandas de CH de metilas e CH₂ (2940 - 2860 cm⁻¹), banda em 1635 cm⁻¹ referente a alcenos de compostos como terpenos e alguns lípidios, bandas de C=C de aromáticos entre 1600-1500 cm⁻¹, bandas de éter aromático entre 1250-1150 cm⁻¹ e bandas em CH₂ em 720 cm⁻¹ que pode se relacionar a flavonoides tipo flavononas e flavonoides metoxilados. As formulações 3 e 4 mostraram bandas mais pronunciadas para C=O na região de 1720 cm⁻¹ referente a éster cíclico de PLC e bandas em 1450, 1375 e 720 cm⁻¹ referente a bandas de CH₂. Além de bandas de C-O de éster em 1070 cm⁻¹. As nanopartículas (NP3 e NP 4) também mostraram sinais menos intensos do extrato PMUP demonstrando que o extrato de PMUP apresenta-se encapsulados na forma de nano compósito de PCL carregados com extrato de Própolis Marrom de União dos Palmares.

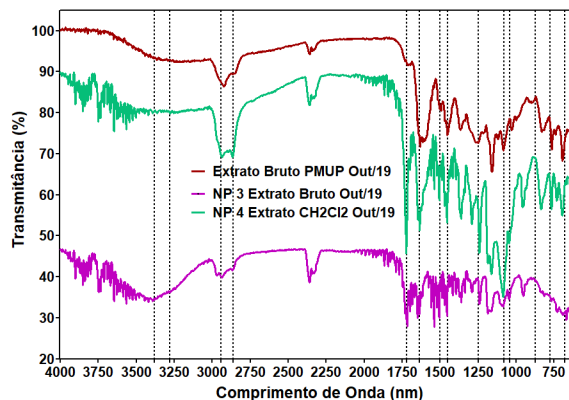


Figura 4 – Espectros FTIR do extrato de PMUP e Nanopartículas carregadas com Extrato PMUP.

A análise termogravimétrica (TGA), representada na figura 5, mostra a variação da massa em função da temperatura. Os eventos de perda de massa acontecem a partir de 300°C até 900°C. As amostras testadas foram o extrato de outubro/2019 fração dicloro, sendo a mais instável, apresentando perda de massa a partir dos 250°C até 450°C com redução de até 80%; as nanopartículas de CH₂Cl₂ e o extrato bruto de outubro/2019, que tiveram perda de massa por volta de 300°C. Foi observado que as três amostras possuíam eventos de perda de massa em temperaturas próximas, porém é possível perceber que a perda de massa e degradação total das amostras de nanopartículas ocorreram em uma temperatura um pouco maior de início, em relação ao extrato, mostrando também um intervalo mais longo o que sugere uma proteção térmica da matriz polimérica.

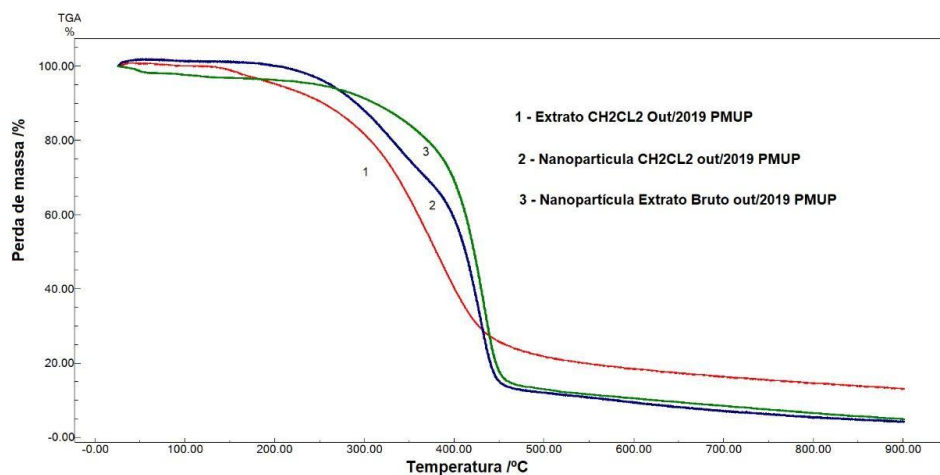


Figura 5. Gráfico do percentual de massa dos extratos da própolis marrom (PM) e das nanopartículas em função da temperatura.

A figura 6 mostra a curva calorimétrica (DSC) das 3 amostras que foram analisadas de acordo com a variação de entalpia. Observou-se que todas demonstraram picos de eventos exotérmicos nas temperaturas de 380°C e depois por volta de 450°C.

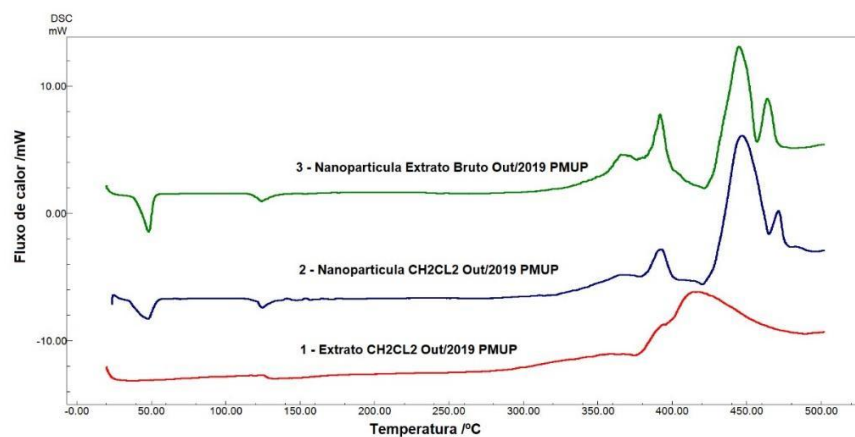


Figura 6. Gráfico da curva calorimétrica (entalpia) dos extratos da própolis marrom (PM) e das nanopartículas em função da temperatura.

Conclusões

As nanopartículas poliméricas foram capazes de revestir a própolis marrom de União dos Palmares/AL. Além disso, todas as amostras testadas demonstraram boa atividade antioxidante, observando-se melhor resultado na nanopartícula que continha em sua composição o extrato da fração diclorometano (NP4). Através das análises térmicas, foi observada uma proximidade no comportamento térmico das mesmas indicando a perda de massa das amostras em temperaturas aproximadas, porém com uma maior termo-estabilidade nas amostras que possuíam em sua composição a matriz polimérica. Os dados de FTIR mostraram que as nanopartículas NP3 e NP4 apresentaram-se na forma de nanocompósitos de PCL carregados com extrato de própolis marrom de União dos Palmares.

Referências bibliográficas

- DE MÉLO SILVA, I. S. et al. Encapsulation of Red Propolis in Polymer Nanoparticles for the Destruction of Pathogenic Biofilms. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 2, 2020.
- DO NASCIMENTO, T. G. et al. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, 2016.
- GONZÁLEZ-MASÍS, J. et al. Increased fibroblast metabolic activity of collagen scaffolds via the addition of propolis nanoparticles. **Materials**, v. 13, n. 14, p. 1–13, 2020.
- HADINOTO, K.; SUNDARESAN, A.; CHEOW, W. S. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: A review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3 PART A, p. 427–443, 2013.
- JONG, W. H. DE; PAUL, J. B. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, n. 2, p. 133–149, 2008.