

NANOPARTÍCULAS DO ANTITUMORAL CURCUMINA: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

L. C. Massimino¹ e S. A. Yoshioka^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia, EESC/FMRP/IQSC
Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil

²Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil
e-mail: livia.cm@usp.br

Resumo: A nanotecnologia é uma importante vertente da área de engenharia de materiais, direcionando diversos estudos para viabilizar formulações e sistemas de liberação de fármacos ou substâncias bioativas. Uma das substâncias pesquisadas é a curcumina, um composto natural presente na *Curcuma longa* Linn, que apresenta potente atividade medicinal. Neste estudo foram obtidas nanopartículas de curcumina por 2 métodos que foram caracterizadas por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), espectroscopia no infravermelho (FTIR), espectroscopia de fluorescência e solubilidade. Os resultados de DLS e de espectroscopia de fluorescência mostraram a obtenção de partículas em escala nanométrica. Já os resultados de FTIR indicaram que as nanopartículas obtidas têm as mesmas características químicas da curcumina comercial. Entretanto os ensaios de solubilidade mostraram o aumento superior a 30 vezes para a solubilidade das nanopartículas obtidas. Assim, os processos utilizados para a obtenção de nanopartículas de curcumina podem vir a melhorar a viabilização dessa substância em testes clínicos.

Palavras-chave: curcuminóides, nanopartículas, solubilidade.

Abstract: *Nanotechnology is an important trend in the area of materials engineering, directing several studies to enable formulations and drug or bioactive substances delivery systems. One of the substance researched is curcumin, a natural compound found in Curcuma longa Linn, with a potential medicinal activity. In this study, curcumin nanoparticles were obtained by two methods and characterized by Dynamic Light Scattering (DLS), infrared spectroscopy (FTIR), fluorescence spectroscopy and solubility. The results of DLS and fluorescence spectroscopy showed that particles have nanometer size. FTIR results showed that both nanoparticles have the same chemical characteristics of commercial curcumin. However, in solubility tests were observed an increase more than 30 times in comparison to commercial curcumin. Thus, the processes studied in this paper can be used to improve the viability of this substance in clinical trials.*

Keywords: *curcuminoids, nanoparticles, solubility.*

Introdução

Na última década ocorreu um rápido aumento na pesquisa e desenvolvimento na área de engenharia de materiais, sendo a nanotecnologia uma importante vertente nesse campo. Nanomateriais incluem partículas de tamanho nanométrico e materiais com tamanho de poros nessa escala. O tamanho reduzido mostra expressiva mudança em suas propriedades físicas e químicas. Um campo em particular que as nanopartículas têm o potencial de revolucionar é a medicina denominada de nanomedicina. Essa área deve trazer novos avanços tecnológicos tanto no desenvolvimento de novos fármacos como também na reformulação daqueles já existentes para aumentar sua eficácia, melhorar sua distribuição ou absorção no organismo e reduzir os efeitos colaterais [1, 2], como no caso da curcumina.

Curcumina é o principal polifenol biologicamente ativo extraído do rizoma da *Curcuma longa* Linn (Zingiberaceae), popularmente conhecida na culinária indiana como açafrão. A curcumina disponível comercialmente é composta pela mistura de 77% de curcumina, 17% de desmetoxicurcumina e 6% de bisdesmetoxicurcumina. Estudos apontaram efeito sinérgico entre elas, mostrando uma melhora na atividade nematocida [3, 4]. Desde a antiguidade esse tempero é utilizado para combater doenças, sendo aplicado na medicina tradicional do oriente; e atualmente diversos estudos comprovam sua atividade antioxidante [5], anti-inflamatória [6], antimicrobiana [7], antidiabética [8] e antitumoral [9, 10].

Apesar de possuir inúmeras propriedades medicinais, esse composto apresenta uma enorme limitação em sua aplicação clínica relacionada com sua baixa solubilidade em água, bem como sua pouca biodisponibilidade e rápida metabolização [11].

Para viabilizar sua aplicação clínica novos estudos de formulações e sistemas de direcionamento de fármacos são necessários. Muitos desses estudos estão sendo feitos na área da nanotecnologia, como a formação de lipossomas, nanopartículas, nanogéis, nanocristais e nanoemulsões [12]. Este estudo visou à obtenção de nanopartículas a partir de curcumina comercial e sua caracterização, tendo em vista aumentar sua solubilidade.

Materiais e métodos

Curcumina comercial, Kampo de Ervas Produtos Naturais. Todos os reagentes e solventes usados foram de grau PA.

Obtenção de nanopartículas de curcumina – Solução de curcumina comercial foi preparada a $0,05 \text{ g mL}^{-1}$ em meio alcoólico. 100 mL de solução foram adicionados em volume definido de água desionizada submetida à agitação (200-1000 rpm) ou sonicação (120 W), originando amostras denominadas de NEA e NES, respectivamente. As nanopartículas de curcumina formadas foram liofilizadas, obtendo-se um pó amarelo.

Análise de tamanho de partícula – Foi determinada por espalhamento dinâmico de luz (DLS) usando Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments) a 25°C . Amostras foram diluídas em água na concentração de $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Foram realizadas 10 determinações independentes.

Espectroscopia no infravermelho (FTIR) – Os espectros foram obtidos em pastilhas de KBr em um intervalo entre 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans, utilizando um equipamento Shimadzu IRAffinity-1.

Espectroscopia de fluorescência – A medida da fluorescência foi feita em espectrofotômetro de fluorescência Hitachi F-2500, com concentrações de $50,0$, $25,0$, $12,5$, $6,2$, $3,2$, $1,6$ e $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Os espectros de emissão foram registrados de 430 a 700 nm com uma onda de excitação em 420 nm .

Solubilidade – Uma quantidade em excesso de amostra foi adicionada a $4,0 \text{ mL}$ de água desionizada. A mistura foi submetida a agitação constante em temperatura ambiente por 24 h a 500 rpm . Após esse período, as amostras foram filtradas em membrana filtrante com $1,2 \mu\text{m}$ de porosidade e $3,0 \text{ mL}$ do filtrado foram liofilizados e pesados. Os testes foram feitos em quintuplicata.

Resultados

As nanopartículas de curcumina foram obtidas por ambos os métodos. A análise de tamanho de partículas por DLS mostrou para NEA uma distribuição maior em $190,1 \pm 1,7 \text{ nm}$ e uma menor em $43,8 \pm 1,0 \text{ nm}$, e para NES uma única distribuição em $190,1 \pm 1,2 \text{ nm}$, conforme gráficos mostrados nas Figuras 1 e 2.

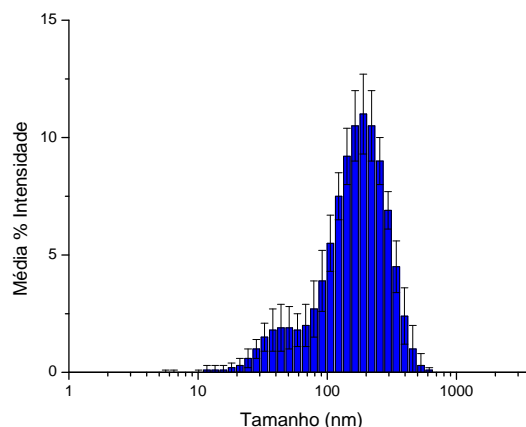


Figura 1: DLS da amostra NEA.

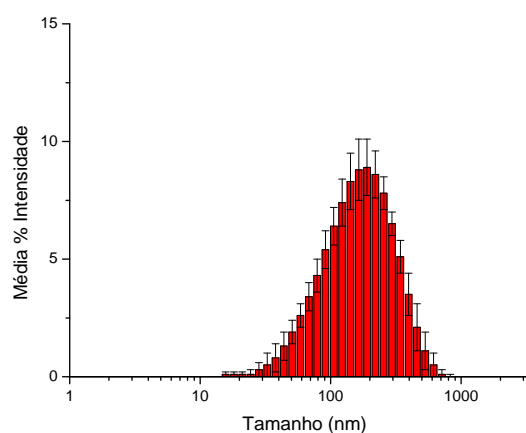


Figura 2: DLS da amostra NES.

Os resultados obtidos no FTIR podem ser observados na Figura 3.

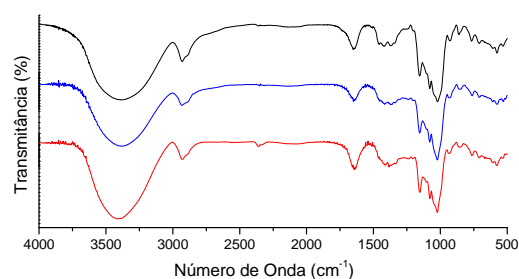


Figura 3: Espectro no infravermelho de: curcumina comercial (—), NEA (—) e NES (—).

Para a espectroscopia de fluorescência obteve-se os espectros mostrados nas Figuras 4 e 5.

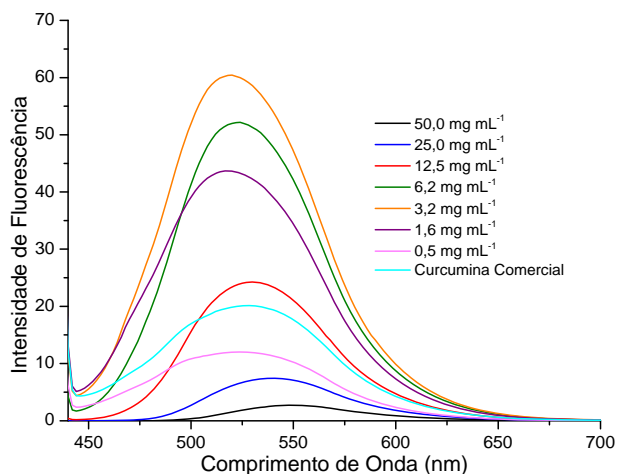


Figura 4: Espectro de fluorescência da curcumina comercial e em diferentes concentrações de NEA.

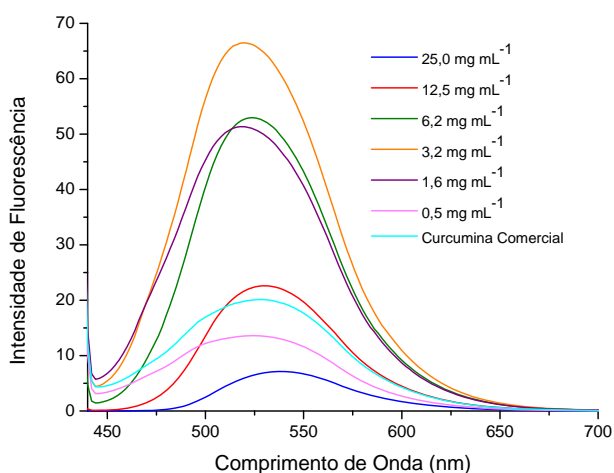


Figura 5: Espectro de fluorescência da curcumina comercial e em diferentes concentrações de NES.

Os resultados obtidos na análise de solubilidade podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1: Solubilidade da curcumina comercial e das amostras de nanopartículas, NEA e NES.

Amostra	Solubilidade (mg mL ⁻¹)
Curcumina comercial	1,2 ± 0,1
NEA	67,0 ± 8,4
NES	46,1 ± 7,9

Discussão

A baixa solubilidade da curcumina e seu grande interesse na área médica devido principalmente a sua ação antitumoral, levou ao presente estudo. Assim a obtenção de nanopartículas de curcumina introduz uma maior probabilidade de êxito em sua aplicação.

As amostras obtidas mostraram um tamanho médio de 190 nm, para ambas as amostras, NEA e NES, sendo que a NEA apresentou também a presença de partículas de tamanho médio de 43,8 nm. Assim, estas podem ser classificadas como nanopartículas, uma vez que sua dimensão está na escala nanométrica.

Os espectros de FTIR mostraram bandas características na região de 3300-3400 cm⁻¹ referente as vibrações do grupo OH livre do fenol. As bandas intensas em 1640, 1647 e 1650 cm⁻¹ referem-se a vibração do grupo carbonila. As bandas na região 1380-1470 cm⁻¹ são referentes as vibrações C=C do anel aromático e elongação da ligação C-O. Na região de 700-900 cm⁻¹ são referentes a C-H dos grupos alenos [13]. Esse mesmo padrão de bandas para as amostras de NEA, NES e curcumina comercial indica que as características químicas da curcumina comercial foram mantidas após os processos de obtenção das nanopartículas.

Pelo espectro de fluorescência observa-se para ambas as nanopartículas, NEA e NES, que acima da concentração de 3,2 mg mL⁻¹, ocorre uma diminuição na intensidade de fluorescência, sugerindo um *quenching* [14] que provavelmente ocorre devido à agregação ou formação das nanopartículas.

O ensaio de solubilidade mostrou que a solubilidade da curcumina comercial utilizada neste trabalho apresentou cerca de 1,2 mg mL⁻¹, enquanto que as nanopartículas obtidas tiveram um aumento de 56 vezes na solubilidade para NEA e de 38 vezes para NES. Assim, esse aumento na solubilidade pode vir a facilitar sua aplicação na área médica. Usualmente ocorre uma pré-solubilização da curcumina para ensaios biológicos que é feita em dimetilsulfóxido (DMSO). Com a metodologia utilizada neste trabalho, não é necessária essa pré-solubilização que é prejudicial para as células normais.

Conclusão

A obtenção de nanopartículas de curcumina foi eficiente, pois ambas as amostras apresentaram, além das características químicas estruturais iguais a curcumina comercial, um aumento significativo na solubilidade. A amostra NEA foi a que apresentou melhores resultados quanto ao aumento da solubilidade (56 x), podendo assim estar mais disponível para uma possível absorção no sistema gastrointestinal humano.

Agradecimentos

Os autores agradecem a bolsa concedida pela Capes e assistência técnica das Dras. Virginia C. A. Martins e Cláudia Bernal.

Referências

- [1] Tian J, Xu J, Zhu F, Lu T, Su C, Ouyang G. Application of nanomaterials in sample preparation. *Journal of Chromatography A*. 2013; 1300:2-16

- [2] Thorley AJ, Tetley TD. New perspectives in nanomedicine. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 140(2):176-185
- [3] Anderson AM, Mitchell MS, Mohan RS. Isolation of curcumin from turmeric. *Journal of Chemical Education*. 2000; 77(3):359-360
- [4] Kiuchi F, Goto Y, Sugimoto N, Akao N, Kondo K, Tsuda Y. Nematocidal activity of turmeric - synergistic action of curcuminoids. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 1993; 41(9):1640-1643
- [5] Pizzo P, Scapin C, Vitadello M, Florean C, Gorza L. Grp94 acts as a mediator of curcumin-induced antioxidant defence in myogenic cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2010; 14(4):970-981
- [6] Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2009; 41(1):40-59
- [7] Wang Y, Lu Z, Wu H, Lv F. Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 2009; 136(1):71-74
- [8] Aziz MTA, El-Asmar MF, El-Ibrashy IN, Rezaq AM, Al-Malki AL, Wassef MA, Fouad HH, Ahmed HH, Taha FM, Hassouna AA, Morsi HM. Effect of novel water soluble curcumin derivative on experimental type-1 diabetes mellitus (short term study). *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2012; 4:30
- [9] Milac V, Banerjee S, Landis-Piowar KR, Sarkar, FH, Majumdar, APN, Dou, QP. Curcumin inhibits the proteasome activity in human colon cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Research*. 2008; 68(18):7283-7292
- [10] Lee YK; Lee WS, Hwang JT, Kwon DY, Surh YJ, Park OJ. Curcumin exerts antidifferentiation effect through AMPK alpha-PPAR-gamma in 3T3-L1 adipocytes and antiproliferatory effect through AMPK alpha-COX-2 in cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009; 57(1):305-310
- [11] Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*. 2007; 4(6):807-818
- [12] Sun M, Su X, Ding B, He X, Liu X, Yu A, Lou H, Zhai G. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin. *Nanomedicine*. 2012; 7(7):1085-1100
- [13] Kim HJ, Kim DJ, Karthick SN, Hemalatha KV, Raj CJ, Ok S, Choe Y. Curcumin dye extracted from *Curcuma longa* L. used as sensitizers for efficient dye-sensitized solar cells. *International Journal of Electrochemical Science*. 2013; 8(6):8320-8328
- [14] Ghosh M, Singh ATK, Xu W, Sulchek T, Gordon LI, Ryan RO. Curcumin nanodisks: formulation and characterization. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*. 2011; 7(2):162-167