

## AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE BIOFARMACÊUTICA DE CURCUMINA NANOESTRUTURADA PARA TRATAMENTO DE ARTRITE REUMATOIDE

Thais Arnoni Pereira (PIBIC/FA/Uem), Fernanda Belicanta Borghi (Doutoranda), Andréa Diniz (Orientador), e-mail: adinizbe@gmail.com. Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento: Farmácia.**

**Palavras-chave:** Sistema de liberação, nanopartícula.

### Resumo:

A *Curcuma longa* é uma espécie pertencente à família Zingiberaceae de origem asiática e usada popularmente pelas suas propriedades respiratórias, antimicrobianas, antiinflamatórias, antioxidantes entre outros. Seu principal composto ativo é a curcumina, um polifenol natural insolúvel em água, conhecida pela sua baixa biodisponibilidade (BD). Uma das estratégias para melhorar essa propriedade é aumentar sua solubilidade. Para isso, várias são as técnicas laboratoriais possíveis, mas uma das mais abordadas na atualidade é a nanoestruturação. Qualquer alteração farmacotécnica do insumo ativo deve levar a produtos com viabilidade biofarmacêutica e a avaliação desse desempenho é essencial para que o produto desenvolvido seja aplicado com sucesso na terapêutica. Portanto, o objetivo desse trabalho foi a avaliação do perfil de liberação e permeação da curcumina nanoestruturada. O método de escolha foi à difusão em célula Franz com meio tampão fosfato pH 6,8 com doseamento por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os resultados obtidos mostraram que a curcumina não foi liberada da sua nanoforma e esse comportamento pode ser explicado pelo meio extremamente polar usado no estudo de liberação, associado ao ambiente apolar da nanoforma. Nesse ambiente a curcumina não tenderá a sair da nanoestrutura por sua afinidade lipofílica. Esses dados indicam que a nanoforma de curcumina estudada nesse trabalho será bastante seletiva na liberação do fármaco, sendo somente possível caso haja sua ruptura ou o meio biológico proporcione sua liberação. Esses dados deverão nortear a viabilidade farmacêutica e a determinação de esquema posológico no tratamento pré-clínico de artrite induzida em ratos.

### Introdução

A Curcumina é o principal composto ativo da *Curcuma longa*, que é uma planta pertencente à família Zingiberaceae. Popularmente, utilizada pelas suas ações sobre o sistema digestório (carminativo), atua em doenças respiratórias (asma, bronquites e alergias), ação anti-inflamatória, ação antioxidante entre outras (AKRAM, et al., 2010). Uma de suas atividades que possuem destaque, é no tratamento da artrite reumatoide, sendo uma alternativa terapêutica.

Sabendo dessas propriedades terapêuticas e que sua insolubilidade em água afeta sua biodisponibilidade, fez-se necessário uma modificação farmacotécnica deste composto por meio da nanotecnologia, a fim de melhorar sua biodisponibilidade e conseqüentemente aumentar a sua eficácia.

Na área farmacêutica, a nanotecnologia tem por objetivo desenvolver, caracterizar e planejar a aplicação de sistemas terapêuticos na escala nanométrica. Um exemplo de aplicação desta são as nanopartículas, que são partículas poliméricas em forma de reservatório (cápsulas) ou matricial (matriz polimérica) em que o fármaco está encapsulado ou adsorvido na malha polimérica (BRIGGER et al., 2002).

Assim, a nanopartícula tem por objetivo melhorar a biodisponibilidade da curcumina e realizar o estudo da sua liberação e permeação indicará se este fármaco será liberado e permeado *in vitro*, pois desta forma simula-se o meio fisiológico.

### **Materiais e métodos**

A nanoestrutura de curcumina foi cedida pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Tecnológica do Paraná.

#### *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência*

As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido Waters 600 Controller com detector PDA Waters 2998. A identidade da curcumina foi assegurada pela validação que foi desenvolvida com referência o *Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation* formulado pelo FDA (*Food and Drug Administration/USA*).

As condições utilizadas foram em leitura de 425 e 430 nm, fase móvel combinação de acetonitrila:água acidificada com ácido acético 1,5% (49:51, v/v) em modo gradiente. Sendo que, no primeiro minuto a concentração de acetonitrila se manteve em 49% a partir daí a concentração foi aumentada gradativamente até 100% e permaneceu até o tempo de 4 minutos e 50 segundos, posteriormente esta foi reduzida até 49% e permaneceu constante até o final da corrida.

#### *Estudo de liberação in vitro de curcumina nanopartícula simulando pH 6,8 em Células de difusão do tipo Franz*

O meio simulador utilizado neste experimento foi solução tampão fosfato pH 6,8. Este meio foi preparado de acordo com a dissertação de Testa (2013). Previamente, foi pesado nanopartícula de curcumina e dissolvida no meio simulador na concentração de 2 mg/mL. Foi adicionado 1ml da amostra em cada célula de Franz. As coletas foram realizadas em tempos de 15 min, 30 min, 1h, 2h, 4h e 6h. As amostras coletadas na porção receptora foram filtradas em membrana Millipore Millex-FH hydrophobic PTFE 0,45 µm e posteriormente determinada por CLAE. O experimento foi realizado em seis replicatas. A quantificação foi realizada pela integração das áreas dos picos tendo como base a validação feita.

## Resultados e Discussão

O método analítico desenvolvido mostrou seletividade para a detecção da curcumina e seus curcuminoides. A curcumina é o componente majoritário dos rizomas de *C. longa*, sendo responsável por cerca de 2% do peso seco dos rizomas e os curcuminoides são análogos estruturalmente da curcumina, presente em menor quantidade (SANTIAGO, et al., 2015).

Os outros parâmetros foram pré-validados. O sistema mostrou-se linear com Coeficiente de determinação de 0,996 e a equação da reta foi descrita como:  $y = 3616,7x + 83093$ .

A exatidão foi avaliada em 3 níveis (alto, médio e baixo) e em todas as concentrações utilizadas o método mostrou ser adequado.

Para o estudo de precisão, foi avaliada a precisão intra-dia e inter-dia. Os dados das análises intra-dia, (Tab. 1) mostraram baixa variação, e indicando que o método possui precisão intra-dia. Entretanto, os dados de análises interdia apresentaram dados acima dos 5% de variação estabelecida pelos guias internacionais. Com isso, mais estudos deverão ser realizados para a melhora do sistema. Mas há que se considerar que esse parâmetro não invalida o método, desde que a cada dia de análise seja obtido uma curva de calibração própria.

Tabela 2. Dados demonstrativos da precisão intraensaio do método.

Conc. ug/ml	Média das áreas	Desvio padrão (S)	CV (%)
20	156204,421	4501,37	2,9
60	310674,24	7954,30	2,6
100	452947,443	15976,45	3,5

Os dados apresentados indicaram que foi desenvolvido um sistema satisfatório para a análise de liberação da curcumina a partir da nanopartícula.

Sendo assim, foi realizado o ensaio de liberação e permeação da curcumina presente em nanoestrutura, realizado em sistema de difusão Células de Franz. O experimento foi realizado em seis replicatas e em coletas de tempo diferentes de 15min, 30min, 1h, 2h, 4h e 6h. As amostras foram analisadas pelo sistema cromatográfico, previamente validado e mostrou que não houve detecção de curcumina em nenhuma das amostras analisadas. Esse resultado pode ser explicado pela ausência da liberação da curcumina a partir da nanoestrutura, pelo fato de haver uma maior apolaridade e esta ter afinidade pelos componentes da sua nanoforma, além disso, o meio usado na liberação era extremamente polar sendo desfavorável para que ocorresse a liberação da curcumina.

Sabe-se que os componentes da nanoforma (Caseinato, Cera de Carnáuba e migliol) já são usados em sistemas de nanoestruturas individualmente, porém não há estudos relatados sobre a encapsulação destes compostos juntos. Esses dados indicam que a nanoforma de curcumina estudada nesse trabalho será bastante seletiva na liberação do fármaco, sendo somente

possível caso haja sua ruptura ou o meio biológico proporcione sua liberação.

### Conclusões

Os parâmetros usados para testar a permeação e liberação da nanoestrutura de curcumina não foram eficazes para promover sua liberação, portanto é necessário um meio biológico mais seletivo para promover a sua liberação.

### Agradecimentos

A Fundação Araucária, CNPq e Capes pelos auxílios recebidos.

### Referências

- AKRAM. M, SHAHAB-UDDIN, AFZAL AHMED, KHAN USMANGHANI, ABDUL HANNAN, E. MOHIUDDIN, ASIF. M, **Curcuma Longa and Curcumin: A review article**,2010.
- BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. **Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis**. Advanced Drug Delivery Reviews, Arlington, v.54, p.631-651, set. 2002.
- Food and Drug Administration (FDA), **Bioanalytical Method Validation**. Disponível para download em:  
<<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm368107.pdf>>. Acesso em 29 de março de 2016.
- SANTIAGO, S.V, SILVA, M.P.G, RICARDO, D.D, LIMA, F.E.M. **Curcumina, o Pó dourado do açafão da terra: introspecções sobre química e atividades biológicas**. Química nova, volume 38, 2015.
- TESTA, C. G. **Avaliação comparativa do perfil de dissolução in vitro de microgrânulos gastrorresistentes de omeprazol de diferentes fabricantes para desenvolvimento de medicamento similar**. 2013. Monografia (especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos, Pós-graduação em tecnologias industriais farmacêuticas, Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, 2013.