



Pibic-EM

Avaliação da atividade antioxidante de lipossomas contendo extrato fenólico BYPRODUCT

Autores: Alana Pereira Pegoraro, Carina Cassini, Valeria Weiss Angeli, Cátia dos Santos Branco



INTRODUÇÃO / OBJETIVO

O extrato das brácteas (sementes estéreis) de *Araucaria angustifolia* (EAA) é rico em compostos fenólicos (CF) e exibe atividade antioxidante, anticarcinogênica e neuroprotetora em modelos *in vitro*. No entanto, os CF são instáveis nos fluidos gastrointestinais. Nesse sentido, os lipossomas surgem como alternativas para preservar/otimizar suas características químicas. O presente projeto visou preparar e caracterizar lipossomas contendo EAA, além de avaliar a atividade antioxidante dos lipossomas após preparação e ao final de 60 dias de armazenamento em temperatura ambiente e sob refrigeração.

MATERIAL E MÉTODOS

Os lipossomas foram preparados pelo método de hidratação do filme lipídico, conforme composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Composição e proporções de lipídeos e extrato das formulações testadas de lipossomas

Nome formulação	Proporção EAA:lipídeos(p/p)	Fosfatidilcolina (μmol)	Colesterol (μmol)	Estearilamina (μmol)
1:3	1:3	63	9	---
1:5	1:5	63	9	---
1:5 NV	1:5	67,5	7,5	---

NV: nova proporção de fosfatidilcolina e colesterol

A atividade antioxidante foi medida por meio do método de avaliação da capacidade de varredura do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), no intervalo de 30 e 60 dias, e os compostos fenólicos foram determinados pelo método de Folin Ciocalteu (Singleton et al. 1999).

A eficiência de encapsulação (EE) foi determinada dosando a quantidade dos CF por Folin Ciocalteu (Singleton et al., 1999). A fração não encapsulada foi determinada após a centrifugação por 5 min a 12.000 rpm. A quantidade de CF totais nos lipossomas foi avaliada após a mistura com metanol (1:1), agitação em vórtex e filtração (0,45 μm). A EE foi calculada pela equação abaixo (Eq. 1) (Plangsombat, Rungsardthong and Kongkanermit, 2016):

$$EE (\%) = [(CFT - CFT_{sob}) / CFT] \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

Onde, CFT = compostos fenólicos totais na suspensão recuperados; CFT_{sob} = compostos fenólicos totais no sobrenadante (não encapsulados).

RESULTADOS

No teste de DPPH, a atividade antioxidante dos lipossomas, quando comparados com o EAA livre, foi inferior (Tabela 2). A atividade antioxidante da formulação contendo extrato lipossomado apresentou diminuição da atividade após 60 dias mantida sob refrigeração e temperatura ambiente. A diminuição corrobora com a perda de CF, observada na Tabela 3.

Tabela 2. Atividade antioxidante *in vitro*, pelo ensaio de varredura do radical DPPH dos lipossomas contendo extrato aquoso de *Araucaria angustifolia* após 30 e 60 dias de armazenamento em temperatura ambiente e geladeira.

Proporção EAA ou salina:lipídeos	DPPH (%)				
	Tempo zero	Refrigeração 30 dias	Temperatura ambiente 30 dias	Refrigeração 60 dias	Temperatura ambiente 60 dias
1:3 AAE	47,83 ± 1,08 ^a	42,17 ± 0,68 ^{a#}	44,62 ± 1,58 ^{a#}	31,07 ± 3,95 ^{a#}	35,05 ± 4,23 ^a
1:5 AAE	50,71 ± 1,49 ^a	38,04 ± 0,07 ^{b#}	43,74 ± 0,36 ^{a#}	15,11 ± 0,11 ^{b#}	35,12 ± 3,70 ^{a#}
1:5 NV AAE	64,90 ± 0,47 ^b	41,06 ± 2,09 ^a	50,83 ± 1,42 ^{b#}	48,49 ± 2,69 ^{c#}	35,11 ± 0,71 ^{a#}
AAE livre	61,45 ± 0,64	47,46 ± 0,58 #	49,70 ± 0,57#	53,03 ± 3,63	53,04 ± 0,96#

Resultados expressos em Média ± DP. Letras diferentes correspondem a diferença significativa pelo teste de ANOVA, pós-teste de Bonferroni (p<0,05). # diferença com o tempo zero, pelo teste T pareado (p < 0,05).

RESULTADOS

Os lipossomas foram capazes de reter 60% dos CF após 60 dias e a maior EE obtida foi de 71,60% para LPC 1:5 EAA (Tabela 3).

Tabela 3. Compostos fenólicos totais recuperados e eficiência de encapsulação de lipossomas contendo extrato aquoso de *Araucaria angustifolia*.

EAA ou salina:lipídeo	relação	Recuperação de TPC (%)				
		Tempo zero	8 ± 2 °C (30 dias)	25 ± 2 °C (30 dias)	8 ± 2 °C (60 dias)	25 ± 2 °C (60 dias)
LPC	1:3	100.94 ± 3.94 ^a	91.09 ± 1.81 ^a	83.18 ± 1.72 ^{a#}	72.64 ± 0,59 ^{a#}	71.60 ± 3.56 ^{a#}
AAE	1:5	94.20 ± 4.67 ^a	95.95 ± 0.64 ^a	87.98 ± 1.28 ^a	71.23 ± 0,06 ^{a#}	68.12 ± 0.06 ^{a#}
LPC NV	1:5	108.39 ± 5.77 ^a	94.49 ± 4.38 ^a	79.75 ± 5,32 ^b	55.17 ± 5,37 ^{b#}	67.65 ± 5.74 ^{a#}
AAE						
Mean ± SD		91.04 ± 10.78	79.51 ± 22.07#	71.82 ± 23.21#	60.85 ± 11.17#	65.82 ± 10.10#

EAA ou salina:lipídeo	relação	Eficiência de encapsulação (%)				
		Tempo zero	8 ± 2 °C (30 dias)	25 ± 2 °C (30 dias)	8 ± 2 °C (60 dias)	25 ± 2 °C (60 dias)
LPC	1:3	47.67 ± 1.59 ^a	40.25 ± 7.88 ^a	50.35 ± 5.11 ^a	56.57 ± 1.11 ^a	55.87 ± 2.96 ^a
AAE	1:5	71.60 ± 2.09 ^b	54.44 ± 0.08 ^{a#}	49.42 ± 0.74 ^{a#}	59.14 ± 0.10 ^{a#}	42.65 ± 0.81 ^{b#}
LPC NV	1:5	56.07 ± 3.82 ^a	56.27 ± 1.16 ^a	39.48 ± 5.55 ^{a#}	54.94 ± 1.76 ^a	41.11 ± 4.65 ^{b#}
AAE						
Mean ± SD		55.53 ± 9.22	48.82 ± 7.47#	49.96 ± 6.32	51.55 ± 7.63	48.86 ± 8.52

Resultados expressos em média ± DP. Legenda: TPC: teor de compostos fenólicos; ST estearilamina. Letras diferentes correspondem a diferença significativa pelo teste ANOVA, pós-teste de Bonferroni (p<0,05). # diferença com o tempo zero, pelo teste T pareado (p < 0,05).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de mais estudos de estabilidade e melhorias na formulação serem necessários, os dados do presente estudo mostram que os lipossomas são eficientes para encapsular CF do EAA e representa uma alternativa biotecnológica para o preparo de futuros fármacos auxiliares de tratamento a doenças associadas ao estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRANCO, C. D. S. et al. Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEP-2 cancer cells. *Chemico-Biological Interactions*, v. 231, p. 108–118, 2015.
- BRANCO, C. S. et al. Modulation of Mitochondrial and Epigenetic Targets by Polyphenols-rich Extract from *Araucaria angustifolia* in Larynx Carcinoma. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, v. 19, n. 1, p. 130–139, 2018.
- BRANCO, C. S. et al. *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze has neuroprotective action through mitochondrial modulation in dopaminergic SH-SY5Y cells. *Molecular Biology Reports*, v. 46, n. 6, p. 6013–6025, 2019. Disponível em: .
- PERMANA, A. D. et al. pr oo Jo u Pr. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, p. 111846, 2020.
- PLANGSOMBAT, N.; RUNGSARDTHONG, K.; KONGKANERAMIT, L. Anti-inflammatory activity of liposomes of *Asparagus racemosus* root extracts prepared by various methods. p. 2790–2796, 2016.
- SOUZA, M. O. et al. Antioxidant and antigenotoxic activities of the Brazilian pine *araucaria angustifolia* (Bert.) o. kuntze. *Antioxidants*, v. 3, n. 1, p. 24–37, 2014.
- A.H. Bhat, K.B. Dar, S. Anees, M.A. Zargar, A. Masood, M.A. Sofi, S.A. Ganie (2015). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases: a mechanistic insight, *Biomed. Pharmacother.* 74 (2015) 101–110.

APOIO

