



2023  
XXXI ENCONTRO DE  
**JOVENS  
PESQUISADORES**



XIII Mostra Acadêmica de  
Inovação e Tecnologia

PIBIC-CNPq

## Perfil de segurança biológico de microcápsulas contendo extrato aquoso liofilizado de *Araucaria angustifolia*

NANOFTO

Autores: Amanda Pereira, Carina Cassini, Valéria Weiss Angeli e Cátia dos Santos Branco



### INTRODUÇÃO / OBJETIVO

O extrato aquoso de brácteas de *Araucaria angustifolia* (EAA), rico em compostos fenólicos, apresentou atividade antioxidante e antígeno-tóxica em culturas de células (BRANCO et al., 2015 a-b, 2016, 2017, 2018, 2019 a-b). No entanto, os compostos fenólicos são instáveis nos fluidos do trato gastrointestinal e microencapsulá-los com biopolímeros é uma forma de contornar essas limitações (Dai et al., 2015). Mesmo preparadas com polímeros biodegradáveis, é importante conhecer a citotoxicidade em células intestinais, uma vez que a proposta futura é o uso oral dessas microcápsulas.

Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil de segurança em células intestinais (Caco-2) de microcápsulas contendo ou não EAA, preparadas com quitosana (CHI) e maltodextrina (MD) e CHI e goma arábica (AG), produzidas por *spray drying*, por meio dos ensaios de viabilidade celular, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), níveis de dsDNA e de óxido nítrico (NO).

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Preparação das microcápsulas

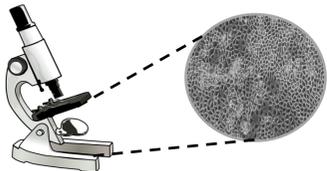


Mini-Spray dryer  
B-290 (Büchi)

As condições de uso foram: temperatura de entrada 150 ± 2 °C; temperatura outlet air temperature 82 ± 3 °C; diâmetro da agulha de 0.7 mm.

#### Cultura celular

Linhagem Caco-2



Meio DMEM-LOW suplementado com

- ❖ 20% soro fetal bovino
- ❖ 1% antibiótico
- ❖ 1% aminoácidos essenciais
- ❖ 1% anfotericina



Mantidas em estufa a 37°C e atmosfera umidificada (5% CO<sub>2</sub>).

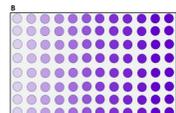
#### Determinação da viabilidade celular



Caco-2  
1x10<sup>5</sup>

Adição do  
reagente MTT

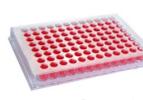
1h - 37<sup>o</sup>



Adição de  
DMSO

Leitura da  
absorbância a  
570 nm

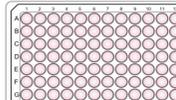
#### Determinação de níveis de óxido nítrico (NO)



Caco-2  
sobrenadante 50 µL

Reagente de  
Griess

15 min  
ao abrigo da luz em  
temperatura ambiente



Leitura da  
absorbância a  
540 nm

#### Determinação de espécies reativas de oxigênio (ROS)



Caco-2

Ensaio  
fluorimétrico  
(DCFH)

Formação de  
produto  
fluorescente (DCF)

Leitura da  
absorbância a  
525 nm

#### Determinação de dsDNA livre



Caco-2

Kit Quant-iT™  
PicoGreen® dsDNA  
(Invitrogen).



Leitura da  
absorbância a  
520 nm

### RESULTADOS

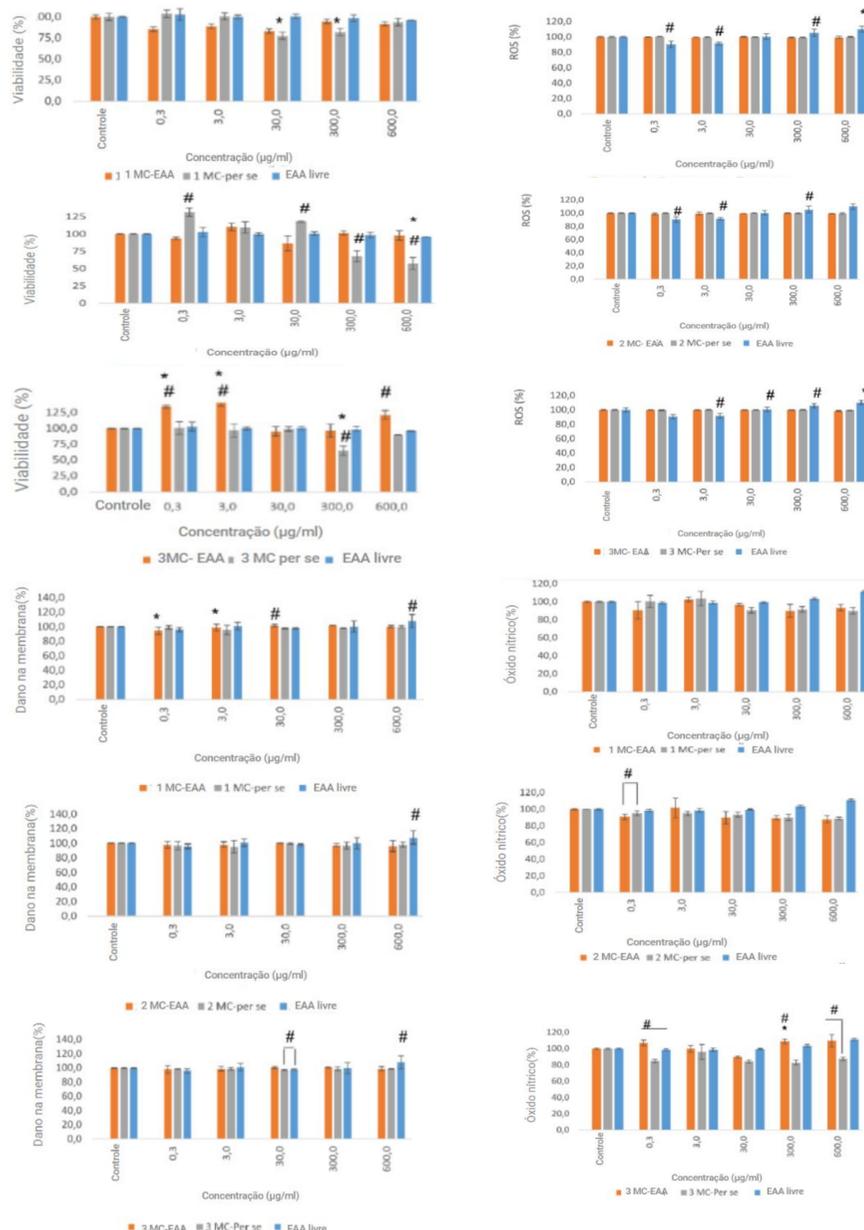


Figura 1. Testes de segurança em células linhagem Caco-2. Viabilidade pelo teste de MTT. Produção de ROS. Danos ao DNA. D: Produção de óxido nítrico. # Indica a diferença significativa entre os diferentes tratamentos na mesma concentração por Teste ANOVA, pós-teste de Bonferroni (p < 0,05). \* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste ANOVA, pós-teste de Bonferroni (p < 0,05). Legenda: MD:maltodextrina GA: goma arábica CHI: quitosana. MC-EAA: microcápsulas com presença de extrato EAA. MC-Per se: microcápsulas per se. EAA livre: extrato de EAA livre.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro trabalho a avaliar o perfil de segurança biológico de microcápsulas preparadas com maltodextrina (MD), goma arábica (AG) ou quitosana (CHI) contendo EAA. Conclui-se, nas condições testadas, que as microcápsulas são potencialmente seguras para uso oral.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEMÁN, A.; Pérez-García, S.; Fernández de Palencia, P.; Montero, M.P.; Gómez-Guillén, M.d.C. Physicochemical, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Rapeseed Lecithin Liposomes Loading a Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Extract. *Antioxidants* 2021,10, 693. <https://doi.org/10.3390/antiox10050693>

BRANCO CS, Lima ÉD, Rodrigues TS, Scheffel TB, Scola G, Laurino CC, et al. Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEP-2 cancer cells. *Chem Biol Interact* 2015;231:108-18

BRANCO, C. S. et al. Modulation of Mitochondrial and Epigenetic Targets 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* (Bertol.) 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 <https://doi.org/10.1007/s11033-019- 05037-6>

DAI P, Zhu L, Luo F et al. Triple recycling processes impact systemic and local bioavailability of orally administered flavonoids. *The AAPS Journal* 2015;17(3):723-36

APOIO

