



MINI CÁPSULAS POLIMÉRICAS PARA A VEICULAÇÃO DE C-FICOCIANINA

Larissa dos Santos Fonseca*, Danilo Costa Geraldes, Laura de Oliveira Nascimento
Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (Latef), Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

1. Introdução e objetivos

O câncer de colorretal é um dos mais incidentes em todo o mundo, o que incentiva a busca por tratamentos que sejam menos invasivos aos pacientes. Entre as alternativas está a c-Ficocianina (CPC), proteína extraída da Spirulina (cianobactéria) que demonstrou ação farmacológica na prevenção e tratamento do câncer colorretal. A CPC foi capaz de bloquear as fases G0/G1 do ciclo celular das células tumorais, mas sua instabilidade em meio gástrico requer formulações que a protejam da variação de pH. Sendo assim, este projeto visou formular a CPC em mini cápsulas poliméricas gastroresistentes, de forma que a CPC se mantenha intacta e protegida em meio estomacal, e seja liberada e possa agir na porção intestinal/duodenal.

2. Métodos

Para definir o melhor método a ser utilizado para a extração e purificação da CPC, realizou-se um planejamento experimental de 2^3 com ponto central, em que foram utilizados como fatores: forma de extração overnight à 4°C e 3 ciclos de congelamento/descongelamento; tampão para extração/purificação PBS e histidina e concentrações de 40%, 60% e 80% de sulfato de amônio. As respostas avaliadas foram: concentração de CPC, pureza, rendimento e fator de purificação.

As encapsulações foram realizadas com alginato de sódio por gelificação iônica em carbonato de cálcio, sendo as cápsulas avaliadas em relação a esfericidade, rendimento, eficiência de encapsulação e perfil de liberação (método farmacopeico).

O perfil de liberação das mini cápsulas contendo CPC ocorreu a 37°C sob agitação em meio estomacal, HCl 0,1 M, durante 2h e em meios duodenal, tampão fosfato pH 7,4, e meio entérico, tampão fosfato pH 6,8, por 4h segundo a USP (United States Pharmacopeia).¹

3. Resultados e discussão

3.1. Quantificação de C-ficocianina

Para a quantificação de CPC, fez-se uma curva de calibração (Figura 1) com diluições variando de 0,355 mg/mL até 0,0158 mg/mL do extrato bruto de c-ficocianina (8,7 mg/mL de CPC). O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,997. O intervalo linear foi testado entre 159,77 µg/mL (limite superior) a 15,8 µg/mL (limite inferior) de CPC (intervalo de quantificação), o que equivale a uma diluição entre 50 a 800 vezes do extrato original. O desvio padrão entre replicatas foi de no máximo 5%.

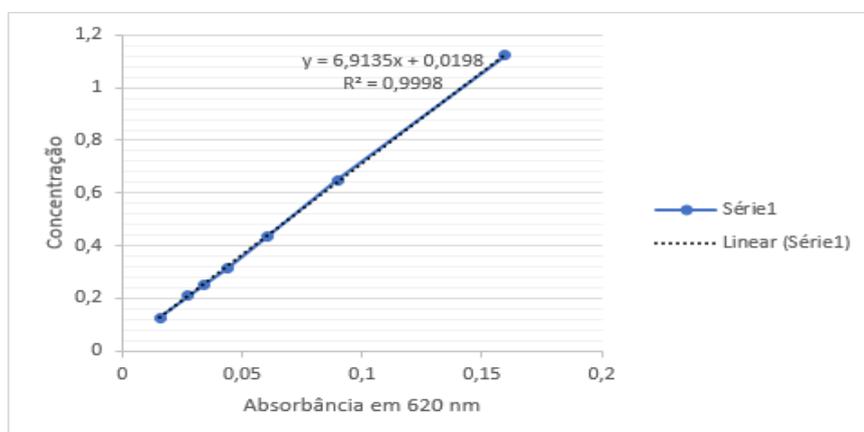


Figura 1: Curva de calibração da concentração de CPC em relação a absorvância em 620 nm.

3.2. Extração e Purificação de C-ficocianina

Os gráficos de pareto gerados a partir dos resultados do delineamento experimental (Figura 2) mostra os efeitos de cada fator (concentração de CPC, pureza, rendimento e fator de purificação) e seu impacto nas respostas estudadas a partir de uma linha de referência para significância estatística. A partir de tais efeitos, concluímos que o melhor procedimento a ser adotado visando a maximização das respostas obtidas foram: utilização do tampão histidina, extração *overnight* e concentração de 40% de sulfato de amônio.

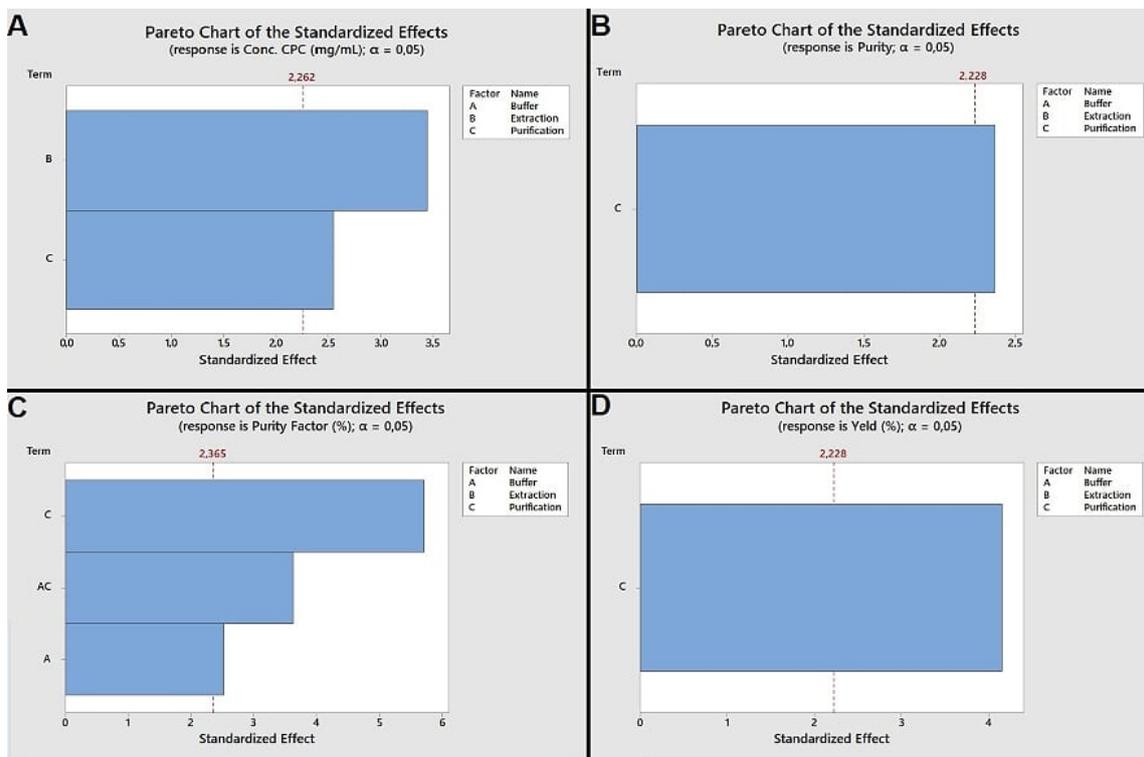


Figura 2: Gráficos de pareto das respostas do delineamento experimental da extração e purificação da C-ficocianina.

3.3. Avaliação das mini cápsulas de C-ficocianina

A avaliação visual das mini cápsulas pode ser observado na Tabela 1. A porcentagem de encapsulação, este foi condizente com a bibliografia para uma solução entre 1,5 a 2,0% de alginato de sódio.²

CPC (mg)	Nº cápsulas	Peso médio (mg)	Peso total (mg)	% Encapsulação	Circularidade	Tamanho médio (cm ²)
2,91	192	17,80 +- 0,79	2790,00	69,20	0,8	0,075 +- 0,011

Tabela 1: Dados obtidos com a encapsulação de CPC.

As informações sobre os tamanhos das cápsulas (Tabela 1 e Figura 3), foram obtidas através de análises de imagem, utilizando o software ImageJ. Obteve-se o valor de 0,8 em circularidade, chegando próximo da esfera “perfeita”, que possui circularidade igual a 1 e um tamanho médio de 0,075 cm² com um desvio padrão de 0,011 cm², equivalente a 14,7% do tamanho médio das cápsulas.



Figura 3: Cápsulas de Alginato com CPC.

3.4. Perfil de Liberação e Eficiência de Encapsulamento

A liberação primeiramente foi avaliada em meio estomacal não sendo detectada a presença de CPC livre no meio. Em seguida, foi avaliada a concentração de CPC livre em meio duodenal em temperatura ambiente e a 37°C para avaliar a estabilidade da proteína no meio, resultando em um teor recuperado superior a 96%.

Já liberação em meio duodenal resultou em uma liberação de 71,6%, enquanto a liberação em meio entérico apresentou uma maior liberação de 83,5%.

3.5. Conclusão

A proteína C-ficocianina foi extraída e purificada com resultados satisfatórios de concentração e pureza para o andamento do projeto, assim como sua detecção pelo método espectrofotométrico proposto.

As mini cápsulas resultantes apresentaram um % de encapsulação de 69,2% que está de acordo com o observado na bibliografia, formato próximo a de uma esfera e uma variação de 14,7% de tamanho entre elas.

Os testes de liberação demonstraram que as mini cápsulas não liberaram a CPC em meio ácido e houve uma maior liberação em meio entérico, indicando para um melhor uso da cápsula para uma liberação ao longo do trato intestinal do que uma liberação localizada no duodeno.

BIBLIOGRAFIA

1. The United States Pharmacopeia. National formulary. Vol. 1. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2017. Collodion; p. 1076
2. Hadiyanto, Suzery, M., Setyawan, D., Majid, D. & Sutanto, H. Encapsulation of phycocyanin-alginate for high stability and antioxidant activity. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 55, 012030 (2017).