

DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS DE ÁCIDO TÂNICO/ZEÍNA POR ELETROSPRAYING: CARACTERIZAÇÃO INICIAL

KARINA PEREIRA LUDUVICO¹; MARJANA RADÜNZ²; HELEN CRISTINA DOS SANTOS HACKBART²; ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE²; ROSELIA MARIA SPANEVELLO²; FRANCIELI MORO STEFANELLO³

¹Universidade Federal de Pelotas – karina_luduvico@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas – marjanaradunz@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – helenhackbart@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – elessandra@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A área de nanomedicina promoveu grande impacto científico nas últimas décadas, tendo em vista o desenvolvimento de nanopartículas e suas múltiplas aplicabilidades (OCSOY et al., 2018). As nanopartículas poliméricas situam-se entre a faixa de tamanho de 1 a 1000 nanômetros, podendo ser classificadas em nanocápsulas ou nanoesferas com base em sua morfologia (ZIELINSKA et al., 2020). A utilização de nanopartículas para o carregamento de moléculas bioativas inclui o uso potencial para liberação controlada, proteção frente ao ambiente, bem como melhora da biodisponibilidade e absorção (BONIFÁCIO et al., 2014; ZIELINSKA et al., 2020). Diversos componentes naturais são solúveis em água, como os flavonoides e taninos. Entretanto, possuem baixa absorção e são incapazes de atravessar as membranas lipídicas, diminuindo assim sua eficácia (BONIFÁCIO et al., 2014). Nesse sentido, a nanotecnologia torna-se uma estratégia relevante para otimizar o uso de produtos naturais com finalidade terapêutica (SQUILLARO et al., 2018).

O ácido tânico (AT) é um polifenol constituinte do grupo dos taninos hidrolisáveis, presente no chá verde, café, vinho e diversos outros alimentos, possuindo sabor adstringente característico (YOUNESS et al., 2021). Estudos na literatura já relataram potenciais biológicos importantes, como a atividade antioxidante (GÜLÇİN et al., 2010), anticarcinogênica (BONA et al., 2020), tipo-antidepressiva (LUDUVICO et al., 2020), além de neuroprotetora (GERZSON et al., 2020) em modelos pré-clínicos.

Diversos processos foram desenvolvidos para a produção de nanomateriais, e o *eletrospraying* tem sido amplamente utilizado (BHUSHANI et al., 2017). O princípio da técnica baseia-se na aplicação de um campo elétrico à solução polimérica, cujo resultado será a dispersão de pequenas gotículas projetadas em um coletor metálico. Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis são utilizados como material encapsulante, dentre esses a zeína, uma proteína hidrofóbica extraída do milho (TRAN et al., 2019).

Em vista do que foi exposto, os objetivos do trabalho foram desenvolver nanocápsulas de AT utilizando zeína como polímero encapsulante através da técnica de *eletrospraying*, bem como verificar a morfologia e tamanho das cápsulas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2. METODOLOGIA

2.1 Ácido tânico (AT) e zeína

O AT e a zeína utilizados foram obtidos comercialmente da Sigma-Aldrich.

2.2 Soluções poliméricas

As soluções poliméricas de AT/zeína foram preparadas com zeína 9% (p/v) e diluídas em etanol 70%, com base em estudo prévio (RADÜNZ et al., 2020). Posteriormente, foram colocadas em agitador magnético até a completa homogeneização. As soluções preparadas estão descritas a seguir:

- I - Cápsula de zeína 9% sem adição de AT (cápsula vazia);
- II - Cápsula de zeína 9% + 0,5% de AT;
- III - Cápsula de zeína 9% + 1,0% de AT;
- IV - Cápsula de zeína 9% + 1,5% de AT;
- V - Cápsula de zeína 9% + 2,0% de AT.

2.3 Eletrospraying

Para o processo foi utilizada uma estação horizontal com fonte de alta tensão com corrente contínua (INSTOR – Projetos & Robóticas, Brasil), bomba de infusão (KD Scientific, Estados Unidos) e coletor metálico coberto com papel alumínio. A solução foi colocada em uma seringa de 1 mL com o fluxo de 1 mL/hora, a uma distância de 10 cm entre a ponta da agulha e o coletor. A tensão utilizada foi de +16 kV (na ponta da agulha) e -8 kV (no coletor metálico).

2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das cápsulas foi avaliada através do microscópio eletrônico de varredura JSM6610LV (Jeol), no Centro de Microscopia Eletrônica do Sul – FURG. Para isso, as amostras foram recobertas com ouro utilizando uma corrente de 20 mA por 120 segundos. As imagens obtidas foram realizadas em aumento de 12.000 vezes. A análise do diâmetro foi realizada com o software ImageJ.

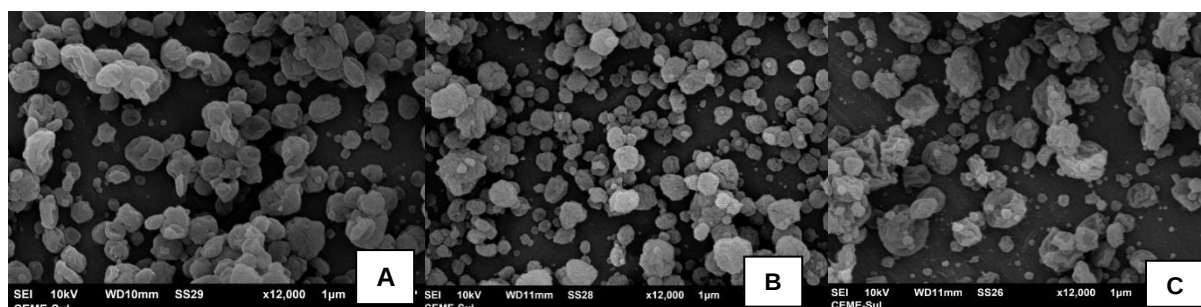
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens obtidas através do MEV demonstram nanocápsulas homogêneas (Figura 1A-E), com os seguintes diâmetros médios (em nanômetros) demonstrados na tabela 1:

Amostra	Diâmetro médio (nm)
Cápsula vazia	478 nm
Cápsula 0,5%	399 nm
Cápsula 1,0%	357 nm
Cápsula 1,5%	441 nm
Cápsula 2,0%	339 nm

Tabela 1: Diâmetro médio (nm) das nanocápsulas.



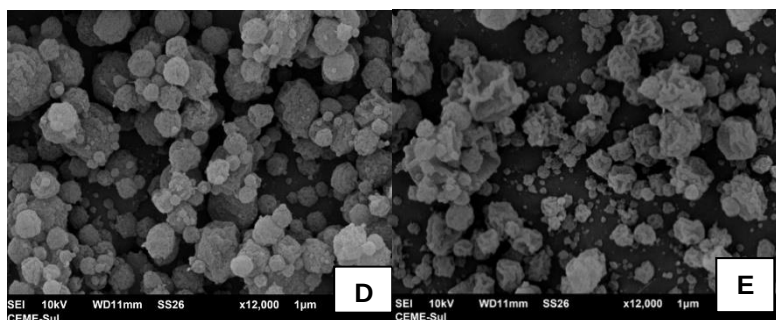


Figura 1A-E: Fotografias obtidas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). A: cápsula vazia; B: cápsula 0,5% AT; C: cápsula 1% AT; D: cápsula 1,5% AT; E: cápsula 2% AT.

A complexação entre zeína e AT ocorre devido a interações não covalentes, em sua maioria por ligações de hidrogênio (ZOU et al., 2015). Sendo assim, por meio das interações específicas ocorre a formação da nanoestrutura, conforme observado no presente estudo. A cápsula vazia apresentou um diâmetro maior em relação as outras, possivelmente pela ausência de material encapsulado. A cápsula 1,5%, por sua vez, apresentou um diâmetro médio de 441 nm, bem como a morfologia mais homogênea dentre os tratamentos. A diminuição do diâmetro da cápsula 2% pode estar atrelado a saturação do material de encapsulação e a deposição de AT por fora das nanoestruturas, conforme observado na MEV. Além disso, a cápsula com maior teor de AT apresentou morfologia deformada comparado às outras estruturas.

O processo de *eletrospraying* possui algumas vantagens em comparação a outros métodos para a formulação de nanoestruturas. Sabe-se que a geração e o tamanho das gotículas podem ser controladas até certo ponto, por meio da taxa de fluxo da solução e voltagem utilizada (JAWOREK & SOBCZYK, 2008).

As características de hidrofobicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade da zeína são de grande relevância para sua utilização como material encapsulante (TRAN et al., 2019). Vale ressaltar que existem trabalhos já publicados com produtos naturais utilizando zeína como material encapsulante, como o desenvolvimento de nanopartículas de procianidinas/zeína (ZOU et al., 2012). Além disso, estudos prévios também já demonstraram o desenvolvimento de nanoestruturas com fitoquímicos através do *eletrospraying*, como por exemplo partículas de quercetina/zeína (RODRÍGUEZ-FÉLIX et al., 2019), cápsulas de ácido fólico/zeína (EVANGELHO et al., 2019), bem como cápsulas de extrato de brócolis/zeína (RADÜNZ et al., 2020).

4. CONCLUSÕES

A análise de MEV demonstrou uma morfologia satisfatória das cápsulas, com diâmetro na faixa de nanômetros. Sendo assim, tendo em vista as propriedades biológicas relevantes do AT e a capacidade da zeína como material encapsulante, os resultados impulsionam novas análises na caracterização das nanocápsulas produzidas pelo método de *eletrospraying*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- OCSOY et al. Nanotechnology in Plants. **Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology**, v. 164, p. 263-275, 2018.
- ZIELINSKA et al. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. **Molecules**, v. 25, n. 16, 2020.

- BONIFÁCIO et al. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 1-15, 2014.
- SQUILLARO et al. Nano-delivery systems for encapsulation of dietary polyphenols: an experimental approach for neurodegenerative diseases and brain tumors. **Biochemical Pharmacology**, v. 154, p. 303-317, 2018.
- YOUNESS et al. Recent Advances in Tannic Acid (Gallotannin) Anticancer Activities and Drug Delivery Systems for Efficacy Improvement; A Comprehensive Review. **Molecules**, v. 26, n. 5, 2021.
- GÜLÇİN et al. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, p. 43-53, 2010.
- BONA et al. Tannic acid elicits selective antitumoral activity in vitro and inhibits cancer cell growth in a preclinical model of glioblastoma multiforme. **Metabolic Brain Disease**, v. 35, n. 2, p. 283-293, 2020.
- LUDUVICO et al. Antidepressant Effect and Modulation of the Redox System Mediated by Tannic Acid on Lipopolysaccharide-Induced Depressive and Inflammatory Changes in Mice. **Neurochemical Research**, v. 45, n.9, p. 2032-2043, 2020.
- GERZSON et al. Tannic Acid Ameliorates STZ-Induced Alzheimer's Disease-Like Impairment of Memory, Neuroinflammation, Neuronal Death and Modulates Akt Expression. **Neurotoxicity Research**, v.37, n. 4, p. 1009-1017, 2020.
- BHUSHANI et al. Nanoencapsulation of green tea catechins by electrospraying technique and its effect on controlled release and in-vitro permeability. **Journal of Food Engineering**, v. 199, p. 82-92, 2017.
- ZOU et al. Fabrication, characterization, and cytotoxicity evaluation of cranberry procyanidins-zein nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 293-300, 2012.
- RODRÍGUEZ-FÉLIX et al. Preparation and Characterization of Quercetin-Loaded Zein Nanoparticles by Electrospraying and Study of In Vitro Bioavailability. **Journal of Food Sciences**, v. 84, n. 10, p. 2883-2897, 2019.
- EVANGELHO et al. Thermal and irradiation resistance of folic acid encapsulated in zein ultrafine fibers or nanocapsules produced by electrospinning and electrospraying. **Food Research International**, v. 124, p. 137-146, 2019.
- RADÜNZ et al. Glucosinolates and phenolic compounds rich broccoli extract: Encapsulation by electrospraying and antitumor activity against glial tumor cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 192, n. 111020, 2020.
- ZOU et al. Pickering Emulsion Gels Prepared by Hydrogen-Bonded Zein/Tannic Acid Complex Colloidal Particles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 33, p. 7405-7414, 2015.
- TRAN et al. The use of zein in the controlled release of poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 566, p. 557-564, 2019.