



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE CEILÂNDIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM  
SAÚDE**

**MARINA LIMA RODRIGUES**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE POLIÉSTERES  
CONTENDO LÁTEX DA *EUPHORBIA TIRUCALLI***

**BRASÍLIA-DF**

**2017**

**MARINA LIMA RODRIGUES**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE POLIÉSTERES  
CONTENDO LÁTEX DA *EUPHORBIA TIRUCALLI***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde, da Faculdade de Ciências/ Campus Ceilândia da Universidade de Brasília- UnB, como requisito à obtenção de título de Mestre em Ciências e Tecnologias em Saúde.

**Área de concentração:** Mecanismos básicos e processos biológicos em saúde.

**Linha de Pesquisa:** Nanobiotecnologia Aplicada à Saúde.

**Temática:** Síntese, caracterização e aplicação de materiais nanoestruturados para a entrega de compostos bioativos com ênfase em tratamentos contra o câncer, microorganismos e/ ou inflamação.

**Orientador:** Prof. Dr. Anderson de Jesus Gomes.

**Coorientadora:** Prof. Dra. Claire Nain Lunardi Gomes.

BRASÍLIA-DF

2017

## **PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE POLIÉSTERES CONTENDO LÁTEX DA *EUPHORBIA TIRUCALLI***

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde, da Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília, como parte das exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciências e Tecnologias em Saúde. Defendida em 12 de dezembro de 2017 pela Banca Examinadora, constituída pelos seguintes professores:

---

Prof. Dr. Anderson de Jesus Gomes (Presidente)  
Universidade de Brasília-Campus Ceilândia

---

Prof. Dr. Christopher William Fagg  
Universidade de Brasília-Campus Ceilândia

---

Prof. Dr. Elton Clementino da Silva  
Universidade de Brasília-Campus Ceilândia

---

Prof. Dr. Vicente de Paulo Martins (Suplente)  
Universidade de Brasília- Campus Darcy Ribeiro

Dedico este trabalho aos meus pais, familiares, amigos, aos professores Dr. Anderson e Dra. Claire, que acreditaram que eu era capaz.

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer aos meus pais, a Deus, minha irmã e família pelo apoio. Aos meus orientadores Doutor Anderson de Jesus Gomes e a Doutora Claire Nain Lunardi Gomes por me ajudarem em todas as etapas do meu projeto. Ao meu professor da faculdade e orientando de Trabalho de Conclusão de Curso Doutor Alvaro Carlos Galdos Riveros por toda a base e amizade.

Ao Doutor e químico Diego Dias por toda ajuda no meu projeto desde a produção das nanopartículas até testes de caracterização das nanopartículas, o meu muito obrigada.

Aos doutorandos Odair Barbizan e Antônio Costa, por me ajudarem e darem dicas no laboratório e na dissertação.

Aos alunos de PIBIC Amanda Monici, Mirella Paula, Pedro Sepulveda e Beatriz Gallan, agradeço pela amizade e pela coleta do látex da planta que gera muito tempo de trabalho.

Aos técnicos de química do laboratório da Faculdade de Ceilândia- UnB, Renata e Telles pela amizade e por sempre estarem prontos a ajudar.

Aos guardas Alisson e Antônio pela amizade e por sempre serem prestativos e a todos os funcionários da FCE, o meu muito obrigada.

“Apesar de todo meu ceticismo, sinto que há uma  
força superior que rege o universo”.

MARINA LIMA RODRIGUES

## RESUMO

O encapsulamento de fármacos em sistemas micro e nanoestruturados tem se mostrado uma estratégia adequada para superar mecanismos de resistência celular e aumentar a seletividade da droga por sítio-específicos, diminuindo assim efeitos colaterais. Nesse trabalho foram produzidas partículas à base de poliéster (ácido polilático-co-glicólico) utilizadas para encapsular o látex da planta *Euphorbia tirucalli*, contendo o princípio ativo Eufol. Após o preparo das partículas, houve a avaliação dos parâmetros físico-químicos, morfológicos e citotóxicos. As partículas contendo o látex, apresentaram elevada eficiência de encapsulamento (>70 %), com um perfil de liberação lento e constante durante 6 horas. Através da técnica de espalhamento dinâmico de luz verificou-se que as partículas possuem diâmetro variando de 440 a 480 nm e uma tendência de agregação devido ao valor de potencial zeta (-6,44 a -21,7 mV). Na espectroscopia de FTIR, medidas das nanopartículas de PLGA apresentaram picos das vibrações que confirmaram composição do PLGA. Análise do pó da *E. tirucalli* no FTIR apresentou banda com deformação axial do grupo O-H ou N-H em comprimento de onda entre 3.500 e 3.200  $\text{cm}^{-1}$ , vibrações de estiramento do grupo C-H em 2.900  $\text{cm}^{-1}$  e estiramento do grupo C=O próximo a 1.660  $\text{cm}^{-1}$ . E as medidas da nanopartículas contendo a droga apresentaram tanto as características da droga e quanto do PLGA. Na espectroscopia de fluorescência apresentaram três picos entre 200 e 350 nm. As análises termogravimétricas e a calorimetria exploratória diferencial mostram uma tendência para o processo endotérmico, como principal evento a fusão.

**Palavras-chaves:** PLGA; *Euphorbia tirucalli*; nanopartículas; encapsulação.

## ABSTRACT

The encapsulation of drugs in micro and nanostructured systems has been a suitable strategy to overcome mechanisms of cell resistance and increase drug selectivity by site-specific sites, thus reducing side effects. In this work, polyester-based particles (polylactic-co-glycolic acid) were used to encapsulate the latex of the *Euphorbia tirucalli* plant, containing the Eufol active ingredient. After the preparation of the particles, the physical-chemical, morphological and cytotoxic parameters were evaluated. The particles containing the latex presented high encapsulation efficiency (> 70%), with a slow and constant release profile for 6 hours. Through of dynamic light scattering technique, the particles had a diameter varying from 440 to 480 nm and a tendency of aggregation due to the zeta potential value (-6.44 to -21.7 mV). In FTIR spectroscopy, measurements of PLGA nanoparticles showed vibration peaks that confirmed PLGA composition. Analysis of powder *E. tirucalli* in the FTIR showed a band with axial deformation of the OH or NH group at wavelengths between 3,500 and 3,200  $\text{cm}^{-1}$ , CH group stretching vibrations at 2,900  $\text{cm}^{-1}$  and the stretching C = O group to about at 1660  $\text{cm}^{-1}$ . The measurements of nanoparticle containing the drug showed both the characteristics of the drug and the PLGA. In fluorescence, spectroscopy showed three peaks between 200 and 350 nm. The thermogravimetric analyzes and the differential exploratory calorimetry show a tendency for the endothermic process, as the main event the fusion.

**Key words:** PLGA; *Euphorbia tirucalli*; nanoparticles; encapsulation.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Fórmula estrutural reduzida do copolímero PLGA, sendo X o número de unidades de ácido láctico e Y o número de unidades de ácido glicólico. ....	23
<b>Figura 2</b> - Camada de Stern .....	27
<b>Figura 3</b> - <i>Euphorbia tirucalli</i> L. na cidade de Brasília- DF .....	36
<b>Figura 4</b> - Estrutura química do Eufol .....	38
<b>Figura 5</b> - Fatores que influenciam no surgimento do câncer.....	43
<b>Figura 6</b> - Exsicata.....	50
<b>Figura 7</b> - Preparo das nanopartículas .....	51
<b>Figura 8</b> - Tamanho das nanopartículas vazias realizado em triplicata .....	57
<b>Figura 9</b> - Potencial zeta da nanopartículas vazias realizado em triplicata .....	58
<b>Figura 10</b> - Potencial zeta das nanopartículas vazias realizado em triplicata.....	58
<b>Figura 11</b> - Potencial Zeta das nanopartículas com 1 mg realizado em triplicata.....	59
<b>Figura 12</b> - Tamanho das nanopartículas com 5 mg realizado em triplicata .....	59
<b>Figura 13</b> - Potencial Zeta das nanopartículas com 5 mg realizado em triplicata.....	60
<b>Figura 14</b> - Medidas do pó do látex nas concentrações de 1 mg ,2 mg ,3 mg ,4 mg e 5 mg .....	61
<b>Figura 15</b> - Curva de calibração das soluções contendo o pó da <i>Euphorbia tirucalli</i> nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5 mg .....	62
<b>Figura 16</b> - Eficiência de encapsulamento das nanopartículas contendo 1 mg da droga referente a 205 nm .....	63
<b>Figura 17</b> - Eficiência de encapsulamento das nanopartículas contendo 5 mg da droga referente a 205 nm .....	64
<b>Figura 18</b> – Espectros do pó da <i>Euphorbia tirucalli</i> L. solubilizado em metanol.....	65
<b>Figura 19</b> – Espectro do látex da <i>Euphorbia tirucalli</i> L. solubilizado em metanol .....	66
<b>Figura 20</b> - Nanopartículas contendo 1 mg da droga no pH 7,4 durante 6 horas .....	67
<b>Figura 21</b> - Nanopartículas contendo 1 mg da droga no pH 1 ácido durante 6 horas .....	67
<b>Figura 22</b> - Nanopartículas contendo 1 mg da droga no pH 10 básico durante 6 horas .....	68
<b>Figura 23</b> - Nanopartículas contendo 5 mg da droga no pH 7,4 durante 6 horas .....	68

<b>Figura 24</b> - Nanopartículas contendo 5 mg da droga no pH 1 ácido durante 6 horas .....	69
<b>Figura 25</b> - Nanopartículas contendo 5 mg da droga no pH 10 básico durante 6 horas .....	69
<b>Figura 26</b> – Espectro do FTIR das nanopartículas vazias (PLGA) em pastilha de KBr. ....	71
<b>Figura 27</b> – Espectro do FTIR do pó obtido do látex 0,003 mg (droga) em pastilha de KBr. ....	72
<b>Figura 28</b> – Espectro do FTIR das nanopartículas com a droga contendo 1 mg, em pastilha de KBr.....	73
<b>Figura 29</b> – Espectro do FTIR das nanopartículas com a droga contendo 5 mg, em pastilha de KBr.....	73
<b>Figura 30</b> - Picos encontrados na emissão de fluorescência .....	75
<b>Figura 31</b> – Curva DSC de nanopartículas vazias aquecidas de 30 à 400 ° C.....	76
<b>Figura 32</b> – Curva DSC da droga aquecida de 30 à 400 ° C.....	77
<b>Figura 33</b> – Curva DSC de nanopartículas contendo 1 mg da droga aquecidas de 30 à 400 ° C .....	78
<b>Figura 34</b> – Curva DSC de nanopartículas contendo 5 mg da droga aquecidas de 30 à 400 ° C .....	78
<b>Figura 35</b> – Análise de TGA/DTA das Nanopartículas vazias, curva TGA (— vermelha) /DTA (— azul).....	80
<b>Figura 36</b> - Análise de TGA/DTA da droga curva TGA (— vermelha) /DTA (— azul). ....	81
<b>Figura 37</b> - Análise de TGA/DTA das Nanopartículas de 1 mg curva TGA (— vermelha) /DTA (— azul).....	82
<b>Figura 38</b> – Análise de TGA/DTA das Nanopartículas de 5 mg curva TGA (— vermelha) /DTA (— azul).....	83

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Taxonomia da <i>Euphorbia tirucalli</i> L. ....	34
<b>Tabela 2</b> - Compostos químicos e respectivas indicações medicinais.....	37
<b>Tabela 3</b> – Comparação das médias das nanopartículas .....	60
<b>Tabela 4</b> – Eficiência de encapsulamento das nanopartículas de 1 e 5 mg .....	64
<b>Tabela 5</b> - Comparação do perfil de liberação das nanopartículas em diferentes pHs e massas.....	70
<b>Tabela 6</b> - Bandas de absorção no FTIR dos espectros de NPs com a droga, apenas a droga e da NP vazia de PLGA. ....	74
<b>Tabela 7</b> - Eventos térmicos obtidos no DSC nas respectivas regiões (°C). ....	79
<b>Tabela 8</b> - Eventos térmicos observados durante as análises simultâneas de TGA/DTA para as amostras da droga, nanopartículas vazias e nanopartículas contendo a droga. ....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A - Absorbância

$\Delta T$  - Diferença de temperatura

BSA - Albumina Soro Bovino

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>- Diclorometano

DCNT- Doença crônica não-transmissível

DLS- Dynamic light scattering (Espalhamento Dinâmico de Luz)

DMEM- Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DSC - Differential Scanning Calorimetry (Calorimetria Exploratória Diferencial)

DTA - Análise diferencial térmica

$\epsilon$  - Coeficiente de absorvidade molar

EBV – Vírus Epstein Barr

EE - Eficiência de encapsulamento

ER - Receptor de estrogênio

EUA - Estados Unidos da América

FDA - Food and Drug Administration

FTIR - Fourier-transform infrared spectroscopy

HCl - Ácido clorídrico

HSA - Albumina de soro humano

IFN- $\gamma$  - Interferon-gama

IPs - Inibidores de protease

KBr - Brometo de potássio

L. – *Linnaeus*

LTR - Repetição terminal longa

MAMs - Macrófagos associados a tumores

MTT- 3-(4,5-Dimethyl-2-Thiazyl) -2,5- Diphenyl-2HTetrazolium bromide

MW - Molecular weight (Peso molecular)

NIH - National Institutes of Health

nm – nanômetro

NNRTIs - Inibidores de transcriptase reversa não-nucleósidos

NPs – Nanopartículas

NRTIs - Inibidores de transcriptase reversa de nucleósidos

PBS - Phosphate Buffered Saline (Tampão fosfato-salino)

PGA - ácido poliglicólico

PKC – Proteína quinase C

PL - Perfil de liberação

PLA - ácido polilático

PLGA - ácido (polilático-e-glicólico)

PR - Receptor de progesterona

PVA - Álcool polivinílico

RNA - Ácido ribonucleico

RPM - Rotações por minuto

$S_0$ - Estado fundamental

$S_1$ - Singlete excitado

SBF - Soro fetal bovino

T - Temperatura

$T_a$  - Temperatura da amostra

$T_r$  - Temperatura da referência

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral

TGA - Análise Termogravimétrica

UC - Ultracentrifugação

UF - Ultrafiltração

UV - Ultravioleta

VEGF - Vascular endothelial growth factor (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

VIS - Visível

WHO - World Health Organization

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	18
1.1 NANOTECNOLOGIA .....	18
1.1.1 Drug Delivery System .....	19
1.1.2 Nanopartículas poliméricas .....	20
1.2 POLI (ÁCIDO LÁTICO-CO-ÁCIDO GLICÓLICO) .....	23
1.3 CARACTERIZAÇÃO PARA ESTABILIDADE FÍSICA E QUÍMICA DO SISTEMA NANOESTRUTURADO.....	24
1.3.1 Análise física - Espalhamento dinâmico de luz .....	25
1.3.2 Análise química – Potencial Zeta .....	26
1.3.3 Análise físico-química - Eficiência de encapsulamento.....	27
1.3.4 Análise espectroscópica - Espectroscopia de Absorção Molecular (UV- vis).....	28
1.3.5 Análise físico-química e espectroscópica - Perfil de liberação.....	28
1.3.6 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .	29
1.3.7 Espectroscopia de emissão de fluorescência .....	30
1.3.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	30
1.3.9 Termogravimétrica/Diferencial Simultânea (TGA/DTA).....	31
1.4 <i>EUPHORBIA TIRUCALLI LINNAEUS</i> .....	33
1.5 POSSÍVEIS APLICAÇÕES DA NANOPARTÍCULA COM A <i>EUPHORBIA     TIRUCALLI L</i> .....	39
1.5.1 Câncer.....	39
1.5.1.1 Câncer de mama.....	40
2 OBJETIVOS .....	46
2.1 GERAL.....	46

2.2 ESPECÍFICO (S).....	46
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
3.1 EQUIPAMENTOS .....	47
3.2 REAGENTES .....	48
3.3 MATERIAL VEGETAL.....	49
3.4 PRODUÇÃO DO PÓ A PARTIR DO LÁTEX DA AVELOZ.....	50
3.5 PREPARO DAS NANOPARTÍCULAS DE PLGA .....	50
3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS .....	52
3.6.1 Espalhamento dinâmico de luz .....	52
3.6.2 Potencial Zeta .....	52
3.6.3 Eficiência de encapsulamento .....	52
3.6.4 Espectroscopia de Absorção Molecular (UV-vis) .....	53
3.6.5 Curva de calibração .....	53
3.6.6 Perfil de liberação .....	54
3.6.7 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ..	54
3.6.8 Espectroscopia de emissão de fluorescência .....	55
3.6.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	55
3.6.10 Termogravimétrica/Diferencial Simultânea (TGA/DTA).....	55
3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GRÁFICAS.....	56
3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56
4 RESULTADOS .....	57
4.1 TAMANHO, ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO E POTENCIAL ZETA .....	57
4.2 CURVA DE CALIBRAÇÃO.....	60
4.3 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO.....	62
4.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR (UV-VIS) .....	65
4.5 PERFIL DE LIBERAÇÃO .....	66



4.6 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	70
4.7 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA .....	74
4.8 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) .....	76
4.9 TERMOGRAVIMÉTRICA/DIFERENCIAL SIMULTÂNEA (TGA/DTA).....	79
5 DISCUSSÃO .....	84
6 CONCLUSÃO.....	88
REFERÊNCIAS.....	89