

ANÁLISE DE 3-HIDROXIFLAVONA EM NANOPATÍCULAS POLIMÉRICAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

LEMES, Raiane Silva¹; CAZAL, Cristiane de Melo²; SILVA, Silvânia de Sousa³

¹ Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Iporá - GO. raianeslemes@gmail.com; ² Orientadora – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Iporá - GO. criscazal@yahoo.com.br; ³ Mestre em Agroquímica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - GO.

RESUMO: O câncer é caracterizado pelo crescimento desordenado de células anormais com enorme potencial invasivo, em diferentes localizações. Nos últimos anos os medicamentos antitumorais estão intimamente relacionados aos produtos naturais, sendo que cerca de 60% dos medicamentos utilizados no tratamento são de origem natural. A 3-hidroxiflavona é um produto natural que exibe uma atividade antitumoral. Com intuito de maximizar os benefícios e minimizar os efeitos colaterais desse composto, o presente trabalho, visa preparar e caracterizar nanopartículas contendo 3-hidroxiflavona na busca por um medicamento natural encapsulado com atividade antitumoral frente a linhagens de células tumorais humanas. A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizada para desenvolver um método de análise e quantificação de 3-hidroxiflavona, as melhores condições avaliadas foram utilizando a fase móvel acetonitrila:H₂O 65:35, (PH ajustado para 3,01), com um fluxo 1,0 ml min⁻¹ e a concentração 100 mg ml⁻¹; temperatura da coluna em 40 °C e o volume de injeção de 10 µl.

Palavras-chave: Câncer. Nano partícula. 3-hidroxiflavona.

INTRODUÇÃO

O câncer pode ser definido como um conjunto de doenças onde células transformadas adquirem a capacidade de proliferar desordenadamente invadindo órgãos e tecidos adjacentes através de um processo chamado metástase, podem espalhar para diversas partes do corpo (INCA, 2014).

Atualmente o câncer é considerado um dos principais desafios na área de saúde pública em países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo o causador por mais de seis milhões de óbitos a cada ano (GUERRA *et al.*, 2005).

De acordo com Cragg Newman (2000), mais de 60% das drogas em ensaios clínicos com atividade anticancerígeno foram isolados a partir de fontes naturais ou estão relacionados a elas. Como por exemplo, os flavonoides que são usados em alguns fármacos devido às suas propriedades espasmolítica, antitumoral, antialérgica e diurética.

A 3-hidroxiflavona é um produto natural que exibe uma atividade inibitória frente a algumas linhagens de células tumorais. De acordo com Cazal e colaboradores (2013) esta substância inibiu o crescimento de MCF-7 (adenocarcinoma da mama), NCI-H460 (câncer de células não pequena de pulmão) e A375-C5 (melanoma),

apresentando GI₅₀ menor que 8,30 µM, além disso, induziu cerca de 30% de morte celular por apoptose.

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Bem como preparar e caracterizar nanopartículas de poli-ε-caprolactona (PCL) contendo 3-hidroxiflavona visando à diminuição de efeitos tóxicos e/ou aumento do seu índice terapêutico.

MATERIAL E MÉTODOS

Primeiramente a 3-hidroxiflavona (C₁₅H₁₀O₃), foi adquirida na Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Preparou-se uma solução de 1000 µg mL⁻¹ no qual continha 5 mg da amostra de 3-hidroxiflavona em 5mL de acetonitrila (ACN), logo em seguida utilizou-se 1mL desta solução mais 9mL de acetona (purificada) para preparar a concentração de 100 µg mL⁻¹, para ser analisada no HPLC.

O equipamento utilizado nas análises. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi o equipamento Shimadzu SCL-10Avp, degaseificador - DGU-20A, bomba - LC-20AT, auto-injetor - SIL-20A, forno - CTO-20A, detector - SPD-M20A, interface - CBM-20A. .

Coluna C18 Shim-pack ($\phi \times h = 0,5 \times 15,0$ cm) e detector arranjo de diodo (DAD).

Inicialmente foi realizada uma varredura nos comprimentos de onde 190 à 400 nm para obtermos o comprimento de onda máximo a ser trabalhado. Em seguida diferentes condições cromatográficas (Tabela 1) foram investigadas para assegurar o melhor tempo de retenção e simetria do pico. Todas as condições testadas utilizou-se o comprimento de onda de 254 nm, com exceção na condição 3 que foi o 340 nm. O PH foi abaixado ajustado utilizando o ácido acético e ácido glacial.

Tabela 1 - Diferentes condições cromatográficas

Condição	Fase móvel	Fluxo (mL min ⁻¹)	Temperatura da coluna (°C)	Volume de injeção de (μL)	PH
1	MeOH : H ₂ O 50 : 50	1,0	40 -45	20	-
2	ACN: H ₂ O 60: 40	1,0	40 -45	20	-
3	ACN: H ₂ O 75: 25	1,0	40 -45	20	-
4	ACN: H ₂ O 75: 25	1,0	40	20	3,03
5	ACN: H ₂ O 75: 25	1,0	40	10	-
6	ACN: H ₂ O 75: 25	1,0	30	10	3,03
7	ACN: H ₂ O 75: 25	0,8	40	10	3,02
8	ACN: H ₂ O 75: 25	1,0	40	10	3,02
9	ACN: H ₂ O 55: 45	1,0	40	10	3,00
10	ACN: H ₂ O 55: 45	1,0	40	10	3,00
11	ACN: H ₂ O 65: 35	1,0	40	10	3,01
12	ACN: H ₂ O 75: 25	1,0	40	10	2,98

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A 3-hidroxiflavona é um composto químico que possui a fórmula molecular C₁₅H₁₀O₃ e massa molar 238.23 g/mol. É um flavonoide, que possui apenas uma hidroxila, e é bastante utilizado para o tratamento diversas doença.

Inicialmente a 3-Hidroxiflavona(0,1mg mL⁻¹) foi analisada por CLAE-DAD para realizar

a varredura e obteve-se os comprimentos máximos de absorção ($\lambda_{max}=203, 237$ e 343 nm). A Figura 1 nos mostra o cromatograma obtido na condição 11, sendo o melhor resultado obtido em todas as diferentes condições testadas.

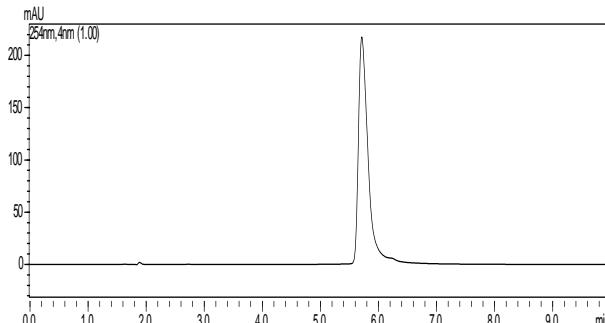


Figura 1: Cromatograma da 3-Hidroxiflavona (0,1mg mL⁻¹) obtido por CLAE, na condição 11

Em uma próxima etapa será realizada a validação do método analítico que será feita de acordo com critérios propostos pela ICH (International Conference on Harmonization, 1996), no qual será analisado os parâmetros como linearidade, seletividade, exatidão, precisão, recuperação, limites de quantificação e de detecção e repetibilidade. Para garantir que o método gere informações confiáveis e interpretáveis assegurando a confiabilidade dos resultados.

CONCLUSÃO

As condições cromatográficas para quantificação da 3-hidroxiflavona foi desenvolvido, entretanto ainda é preciso definir a faixa linear de trabalho e realizar a validação. Adicionalmente, será preparado e caracterizado nanopartículas de poli-ε-caprolactona (PCL) contendo 3-hidroxiflavona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- INCA- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Estimativa 2014, p. 24, 2014.
GUERRA, M. R.; GALLO, C. V. M.; MENDONÇA, G. A.S; Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes; **Revista Brasileira de Cancerologia** , v. 51, p. 227 ,2005.
CRAGG, G.M, D.J. NEWMAN; **Antineoplastic agents from natural sources: achievements and future directions**; Expert Opin Investi Drugs, 9 : 2783-97, 2000.
CAZAL, C. M.; CHOOSANG, K.; SEVERINO, V.G.P.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; VIEIRA, P.C.; NASCIMENTO, M.S.J.; ALMEIDA, G.M.; VASCONCELOS, M.H.; PAKKONG, P.; PINTO, M.M.M. **Anti- Cancer Agents in Medicinal Chemistry**. v. 13, p.1582, 2013.