

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

LUIZA RODRIGUES NENÉ

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS
POLIMÉRICAS CONTENDO LUTEÍNA E ÓLEO VEGETAL DE ANDIROBA**

**Uruguiana
2022**

LUIZA RODRIGUES NENÊ

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS
POLIMÉRICAS CONTENDO LUTEÍNA E ÓLEO VEGETAL DE ANDIROBA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do título de
bacharel em Farmácia

Orientador: Leticia Marques Colomé

**Uruguiana
2022**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

N437d Nenê, Luiza Rodrigues

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS
POLIMÉRICAS CONTENDO LUTEÍNA E ÓLEO VEGETAL DE ANDIROBA /
Luiza Rodrigues Nenê.

46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do
Pampa, FARMÁCIA, 2022.

"Orientação: Letícia Marques Colomé".

1. Nanobiotecnologia. 2. Luteína. 3. Óleo vegetal de Andiroba. 4.
Nanoencapsulação de compostos bioativos. I. Título.

LUIZA RODRIGUES NENÊ

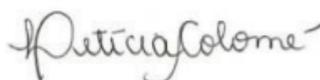
**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS
POLIMÉRICAS CONTENDO LUTEÍNA E ÓLEO VEGETAL DE ANDIROBA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do título de
bacharel em Farmácia

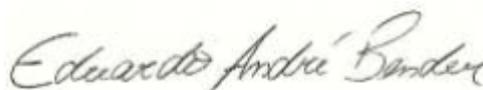
Orientador: Letícia Marques Colomé

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 05, agosto de 2022.

Banca examinadora:

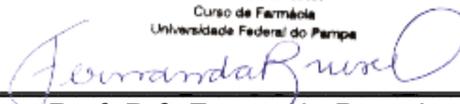


Prof. Dr^a. Letícia Marques Colomé
Orientador
UNIPAMPA



Prof. Dr. Eduardo Andre Bender
UNIPAMPA

Fernanda Bruxel
Curso de Farmácia
Universidade Federal do Pampa



Prof. Dr^a. Fernanda Bruxel
UNIPAMPA

Dedico este trabalho à Sofia, para que ela saiba que a ciência é a chave.

AGRADECIMENTO

A quem primeiro dirijo meu “obrigada” é àquele que esteve comigo nos piores abismos e nas melhores colinas: Exu. Agradeço pela abertura de caminhos, esses por vezes tão virtuosos, mas que agarrada a Deus, tudo parece possível. Obrigada aos meus guias e orixás por todas as vezes que não me permitiram desistir. Sua força e proteção.

Mãe, obrigada por ser minha âncora. Por mais que a embarcação se inclinasse a sair fora de rota, foi tu quem me buscaste. Nem sequer por um dia durante esses cinco anos tu desistiu de mim, e isso é tão reconfortante. Agradeço por me ensinar a ter a força de sete furacões, mas o amor de uma Maria inteira. Eu te amo!

Pai, obrigada por ser meu companheiro! Foi contigo que aprendi que com calma e persistência as conquistas se fazem, e muitas vezes o silêncio é a melhor resposta. Durante estes cinco anos foi em ti que busquei momentos felizes, e guardo na memória todos eles. Eu te amo!

Sofia, obrigada por ser minha melhor amiga! Por vezes eu me via sozinha e lembrava que desde meus onze anos tenho a presença de um anjo em terra. Lembre-se sempre de seguir teus sonhos, e não deixe ninguém te rotular. Eu te amo!

Dinda Rose, obrigada por ser morada! Todas as vezes em que eu voltava, a minha segunda casa estava de portas abertas. Quantas vezes celebramos nossas vitórias, e quantas vezes choramos nossas dores, mas sempre juntas. Eu te amo!

Aos meus avós: obrigada por tanto amor passado entre gerações. Vocês são meus maiores exemplos todos os dias, e é onde aprendi sobre resiliência. Eu amo vocês!

Aos meus amigos: obrigada por estabelecer uma família onde havia incerteza. Sem vocês nada disso faria sentido, e a minha vida seria incolor. Eu amo vocês!

Por fim, à minha professora Letícia: obrigada por me ensinar o significado de cientista. Foi contigo que aprendi tudo de nanobiotecnologia desde o meu primeiro ano de faculdade, mas muito mais que isso, aprendi a ser humana e reconhecer meus erros. Tu és inspiração, eu te amo!

Obrigada Luiza de 17 anos! Você certamente não imaginava aonde chegaria, mas confiou em si mesma e partiu para a aventura mais louca das nossas vidas. Eu amo você!

“Havemos de amanhecer. O mundo
se tingem com as tintas da antemã
e o sangue que escorre é doce,
de tão necessário para colorir tuas pãlidas
faces, aurora.”

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

Os carotenóides são pigmentos lipofílicos que compõem diversas cores da natureza. A luteína é o segundo carotenóide em maior quantidade no soro humano, e possui atividades biológicas, agindo como antioxidante, filtro de luz azul e inibindo o crescimento de células cancerígenas. Entretanto, possui baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade. Já o óleo vegetal de andiroba, que é extraído da semente da *Carapa guianensis* (Aublet), apresenta ação antioxidante, antiprotozoária, cicatrizante e anti-inflamatória. Entretanto esse óleo pode sofrer facilmente reações de oxidação. Logo, o presente estudo desenvolveu nanocápsulas poliméricas carreadoras de luteína e óleo vegetal de andiroba, a fim de aprimorar as propriedades físico-químicas de ambas as substâncias e permitir seu uso terapêutico. As nanocápsulas de luteína foram desenvolvidas pela técnica de deposição interfacial do polímero pré-formado com poli-ε-caprolactona, sendo posteriormente caracterizadas em termos físico-químicos. Os resultados mostraram distribuição de tamanho monomodal com uma polidispersão de 0,834, diâmetro médio de 361 nm, e eficiência de encapsulação de 99,56%. Assim, a nanoencapsulação dos ativos se deu de maneira promissora, com partículas de tamanho adequado e homogêneo e com alta taxa de encapsulamento da luteína. Desse modo, foi possível preparar uma formulação de luteína inovadora, que pode ser futuramente utilizada para finalidades terapêuticas.

Palavras-Chave: nanocápsula; luteína; óleo vegetal de andiroba.

ABSTRACT

Carotenoids are lipophilic pigments that are present in many colors in nature. Lutein is the second largest carotenoid in human serum, and has biological activities, acting as an antioxidant, blue light filter and inhibiting the growth of cancer cells. However, it has low water solubility and low bioavailability. Andiroba vegetable oil, which is extracted from the seed of *Carapa guianensis* (Aublet), has antioxidant, antiprotozoal, healing and anti-inflammatory action. However, this oil can easily undergo oxidation reactions. Therefore, the present study developed polymeric nanocapsules carrying lutein and andiroba vegetable oil, in order to improve the physicochemical properties of both substances and allow their therapeutic use. Lutein nanocapsules were developed by the technique of interfacial polymer deposition with poly-ε-caprolactone, and subsequently characterized. The results showed a monomodal size distribution with an average polydispersity of 0.834, average diameter of 361 nm, and encapsulation efficiency of 99,56%. Thus, the nanoencapsulation of the actives took place in a promising way, with particles of adequate and homogeneous size and high lutein encapsulation levels. In this way, it was possible to prepare an innovative lutein formulation, which can be used in the future for therapeutic purposes.

Keywords: nanocapsule; lutein; andiroba vegetable oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da luteína	19
Figura 2 – Formação da suspensão de nanocápsulas	28
Figura 3 – Distribuição do tamanho de partícula em relação ao número (SNCP-1)	30
Figura 4 – Distribuição do tamanho de partícula em relação ao número (SNCP-2)	30
Figura 5 – Distribuição do tamanho de partícula em relação ao número (SNCP-B)	30
Figura 6 – Curva padrão para obtenção da equação da reta	32
Figura 7 – Cromatograma da amostra de SNCP-2	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição quantitativa da SNCP	26
Tabela 2 – Variação da massa do filme polimérico de PCL durante os dias	28
Tabela 3 – Distribuição granulométrica pela técnica de difração a laser das nanopartículas	29
Tabela 4 – Valores de pH das formulações	32

LISTA DE SIGLAS

OVA - Óleo vegetal de Andiroba

SNCP - Suspensão de nanocápsulas

SNCP-1 - Primeira suspensão de nanocápsulas

SNCP-2 - Segunda suspensão de nanocápsulas

SNCP-B - Suspensão de nanocápsulas branca

NCP - Nanocápsulas poliméricas

AGE - Ácidos graxos essenciais

PCL - poli-ε-caprolactona

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
OBJETIVOS	17
Objetivo geral	17
Objetivos específicos	17
CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA	18
Os carotenóides: suas propriedades e atividades biológicas	18
Luteína: características e propriedades gerais	19
Atividades farmacológicas da luteína	20
Óleos vegetais: características e propriedades gerais	21
Óleo vegetal de andiroba: características e propriedades gerais	21
Atividades biológicas do óleo vegetal de andiroba	22
Nanoencapsulação de compostos bioativos	22
Nanopartículas contendo luteína	23
Nanopartículas contendo óleo vegetal de andiroba	24
METODOLOGIA	25
Teste de inchamento de polímero	25
Preparação da suspensão de nanocápsulas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba	25
Caracterização físico-química da suspensão de nanocápsulas	26
Determinação do diâmetro médio das partículas e da polidispersão	26
Determinação do pH	27
Quantificação da luteína na suspensão de nanocápsulas	27
Eficiência de encapsulação das nanopartículas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
Teste de inchamento de polímero	27
Preparação da suspensão de nanocápsulas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba	28
Caracterização físico-química da suspensão de nanocápsulas	29
Determinação do diâmetro médio das partículas e da polidispersão	29
Determinação do pH	31
Quantificação da luteína na suspensão de nanocápsulas	32
Eficiência de encapsulação das nanopartículas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
PERSPECTIVAS FUTURAS	37

1. INTRODUÇÃO

Os carotenóides são pigmentos lipofílicos que compõem diversas cores da natureza, desde plantas a microorganismos. Estas moléculas podem ser divididas em carotenóides provitamina A - que correspondem a precursores da vitamina A no corpo humano - e carotenóides não precursores de vitamina A, o qual possui o subgrupo das xantofilas, onde a luteína está presente (ROBERTS; GREEN; LEWIS, 2009).

A luteína, bem como os demais carotenóides, não é sintetizada pelo organismo humano, logo deve ser ingerida através da alimentação, uma vez que vegetais de cor verde escura são sua principal fonte (RAO; RAO, 2007). Ela está presente em grandes concentrações na mácula, uma pequena área da retina responsável pela acuidade visual, assim como na lente, outro tecido ocular (ALVES-RODRIGUES, SHAO, 2003). Ademais, a luteína é o segundo carotenóide em maior quantidade no soro humano (EPLER; ZIEGLER; CRAFT, 1993)

A molécula deste pigmento natural possui dois grupos hidroxila em sua estrutura, os quais desempenham um papel fundamental na atividade biológica da molécula (JOHNSON, 2002). A luteína possui importantes atividades biológicas, agindo como antioxidante, filtro de luz azul e inibindo o crescimento de células cancerígenas (STAHL; SIES, 2002; STAHL; SIES, 2003; KAVALAPPA, 2021). Entretanto essa xantofila possui baixa solubilidade em água, e sua biodisponibilidade e a aplicação em formulações são limitadas devido à instabilidade relacionada ao oxigênio, luz e temperatura, já que possui uma estrutura de oito ligações duplas conjugadas (ARUNKUMAR, 2015; QV, 2011.)

Em se tratando de substâncias com diferentes propriedades para o organismo humano, é de suma importância tratar dos óleos vegetais. Estes compostos têm em sua estrutura básica a presença de ácidos graxos, normalmente na forma de triglicerídeos (GIAKOUMIS, 2018). Além disso, possuem demais estruturas que auxiliam na estabilidade e em sua função antioxidante, como os tocoferóis, fenóis e fitoesteróis, sem deixar de citar os fosfolípidios, que agem como sequestradores naturais de radicais livres (RAMADAN, 2006).

O óleo vegetal de andiroba (OVA) é extraído da semente de uma grande árvore neotropical chamada *Carapa guianensis* (Aublet) que pertence à família Meliaceae. Suas atividades biológicas são conhecidas através da medicina popular,

sendo muito utilizada para o tratamento de febres, alergias, reumatismo, inflamações e até como repelente contra insetos. Sua atividade biológica deriva da presença de limonoides, fitoquímicos comumente encontrados em plantas da família Meliaceae (SILVA, 2018). Diversos estudos demonstram sua ação antioxidante, antiprotozoária, cicatrizante e anti-inflamatória (ARAUJO-LIMA, 2018; SILVA, 2018; MELO, *et al.* 2021; WANZELER, 2018). Entretanto, devido à grande quantidade de ácidos graxos presentes em sua estrutura, esse óleo pode sofrer facilmente reações de oxidação, resultando em produtos com menor atividade biológica (CABRAL *et al.*, 2013).

Logo, o desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas (NCP) carreadoras de luteína e OVA torna-se uma alternativa viável para aprimorar as propriedades físico-químicas de ambas as substâncias e permitir seu uso terapêutico. Este sistema de liberação permite uma melhora na solubilidade, estabilidade e eficácia das formulações.

Desse modo, o presente trabalho busca realizar a preparação da formulação nanométrica e posterior caracterização físico-química, além da quantificação da luteína presente na suspensão de nanocápsulas (SNCP), para futura avaliação do potencial anticancerígeno dos compostos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar o desenvolvimento e a caracterização físico química de uma suspensão de NCP contendo luteína e OVA, a fim de ser futuramente utilizada para finalidades terapêuticas.

2.2. Objetivos específicos

- 2.2.1.** Desenvolver NCP contendo luteína e OVA;
- 2.2.2.** Caracterizar as formulações em termos de diâmetro médio, distribuição granulométrica e pH;
- 2.2.3.** Realizar a quantificação da luteína presente nas NCP por CLAE;
- 2.2.4.** Avaliar a eficiência de encapsulação das nanopartículas.

3. CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Os carotenóides: suas propriedades e atividades biológicas

Os carotenóides são pigmentos naturais amplamente difundidos pela natureza, estando presentes em organismos vivos como plantas, bactérias fotossintéticas, fungos e animais. Atualmente existem cerca de 850 tipos de carotenóides relatados, todos com suas cores características que incluem amarelo, laranja, vermelho e roxo (MAOKA, 2020).

Estes pigmentos, em sua maioria, possuem uma estrutura tetraterpênica, podendo apresentar anéis cíclicos em suas extremidades, além de grupos hidroxila em seu esqueleto carbônico. Ademais, o sistema de duplas ligações conjugadas destas moléculas é responsável pela sua coloração típica (GRUSZECKI; STRZAŁKA, 2005).

Estes tetraterpenos podem ser divididos em dois subgrupos: carotenos e xantofilas. Os carotenos são compostos apenas de átomos de carbono e hidrogênio, tais como o β -caroteno e o licopeno. Já o grupo das xantofilas é constituído de hidrocarbonetos e átomos de oxigênio, incluindo a luteína e a zeaxantina (AMENGUAL, 2019).

Tanto carotenos, quanto xantofilas, possuem atividades biológicas importantes. Estes compostos são reconhecidos pela alta atividade antioxidante, já que sequestram radicais livres facilmente (YOUNG; LOWE, 2018). Além disso, apresentam atividade anticarcinogênica, antiviral, atuam como filtro de luz azul, protegem contra exposição a raios UV, e reduzem o risco de catarata, doença cardiovascular e doença degenerativa da mácula. (HEGAZY, *et al.* 2020; KRINSKY; LANDRUM; BONE, 2003; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; STINCO; MAPELLI-BRAHM, 2019; JIANG, 2019; DI PIETRO; DI TOMO; PANDOLFI, 2016; LEM, 2021)

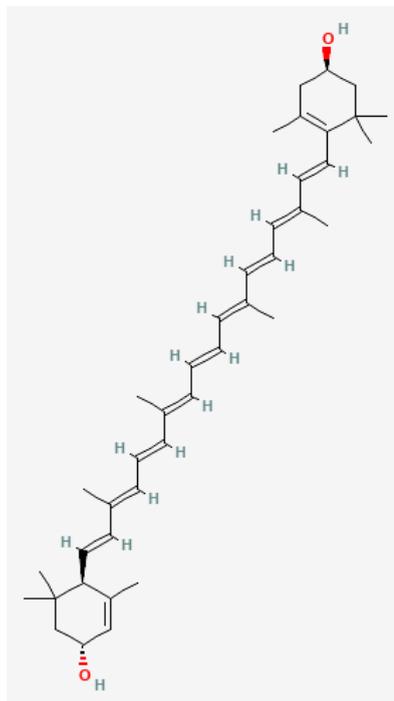
O organismo humano não sintetiza estas substâncias, logo, a única fonte de carotenóides advém da alimentação, como em vegetais verdes folhosos (RODRIGUEZ-CONCEPCION, *et al.* 2018). Apesar disso, estas moléculas se fazem presentes em diferentes partes do corpo, como no plasma e em alguns tecidos - fígado, pele, pulmões, rins, olhos. (HONDA, *et al.* 2021).

3.2. Luteína: características e propriedades gerais

Dentro do subgrupo das xantofilas, encontramos a luteína, um pigmento que confere a cor alaranjada ou amarelada a vários alimentos, como melão, pimentão, cenoura, milho e ovos (ABDEL-AAL, *et al.* 2013). Esta molécula geralmente encontra-se na natureza junto de seu estereoisômero, a zeaxantina. Portanto, depois de extraída, ela precisa ser purificada para que obtenhamos a luteína livre (CLOWUTIMON, *et al.* 2018).

A luteína (figura 1), como os demais carotenóides, possui em sua estrutura básica um esqueleto de duplas conjugadas de átomos de carbono, o que permite um movimento livre de elétrons, além da absorvância de luz na região azul do espectro visível, o que resulta em uma cor laranja característica (BECERRA, *et al.* 2020). Ademais, ela possui dois grupos hidroxila em suas extremidades, o que ressalta sua reatividade com oxigênios singletos (MITRA, *et al.* 2021).

Figura 1. Estrutura química da luteína



Fonte: Pubchem

Esta molécula lipofílica apresenta baixa biodisponibilidade, uma vez que se mostra pouco solúvel em meio aquoso (LACATUSU, *et al.* 2013). Além disso,

diversos fatores podem influenciar para que a molécula se mostre instável, tais como temperatura, exposição à luz e umidade (SHI; CHEN, 1997).

3.3. Atividades farmacológicas da luteína

A luteína vem sendo estudada por possuir destaque em sua ação antioxidante. A luteína livre tem o potencial de inibição da peroxidação lipídica *in vitro*, além de inibir a geração de radicais superóxido *in vivo* (SHINDU, *et al.* 2010). Através da sua ação direta no estresse oxidativo, a luteína também se mostra capaz de agir como um potente antidepressivo, melhorando as anormalidades neuroquímicas de algumas regiões do cérebro (ZENI; CAMARGO; DALMAGRO, 2019). Além disso, este pigmento possui potente atividade cardioprotetora, podendo ser recomendado com agentes cardioprotetores padrão para o tratamento de algumas complicações relacionadas ao infarto agudo do miocárdio (OUYANG, *et al.* 2019).

Considerando suas ações protetivas do organismo, a luteína ainda possui forte atividade antiinflamatória, capaz de melhorar a inflamação crônica de pacientes com doença da artéria coronária em estudos *ex vivo* (CHUNG, *et al.* 2017). Ademais, ela reduz os níveis de espécies reativas de oxigênio e inibe a ativação do fator nuclear kappa B (NF-kB) e transdutores de sinal e ativadores de transcrição - 3 (STAT3), que são mediados por tais átomos, inibindo também a expressão de mediadores inflamatórios, como interleucinas e ciclooxygenases (AHN; KIM, 2021).

A luteína atua como filtro de luz azul, protege contra os danos dos raios UV, e através de sua suplementação, há um aumento no seu potencial de fotoproteção da pele (ROBERTS, 2009; LEE, *et al.* 2004; ZMITEK, *et al.* 2020). Ademais, a luteína possui um importante papel na inibição do crescimento de células cancerígenas através de um mecanismo de supressão da defesa antioxidante celular (KAVALAPPA; GOPAL; PONESAKKI, 2020). Com isso, alguns estudos focam no potencial deste carotenóide como ativo antitumoral para o tratamento de melanoma. Conforme relata Roberts (2013), a administração de luteína à uma cultura de células de melanoma inibiu significativamente a quantidade e a atividade da metaloproteinase da matriz 1 e 2 (MMP-1 e MMP-2, respectivamente). Além disso, houve a inibição de células de melanoma A375 a partir do uso de um extrato de folhas de pomelo contendo luteína (LIU; LI; CHEN, 2021)

3.4. Óleos vegetais: características e propriedades gerais

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, os óleos e gorduras vegetais são produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécies vegetais, podendo conter pequenas quantidades de outros lipídeos (ANVISA, 2005).

Atualmente, estes óleos estão sendo incorporados a formulações farmacêuticas devido às diferentes atividades biológicas que apresentam. Tais propriedades devem-se aos constituintes que encontramos nestas gorduras.

Os ácidos graxos essenciais (AGE) fazem parte desta composição, e ocupam funções importantes no organismo, principalmente na pele, onde constituem as membranas celulares das células do estrato córneo, mantendo uma barreira de proteção adequada (MARTINS; VEIGA, 2002).

Outrossim, os óleos vegetais podem conter vitamina A, que apresenta atividade antiinflamatória (OLIVEIRA, *et al.* 2018); lanolina, que possui atividade cicatrizante (MARIANI NETO, *et al.* 2018) e triglicerídeos de cadeia média, que auxiliam na regeneração de tecidos no corpo (DE NARDI, *et al.* 2004).

3.5. Óleo vegetal de andiroba: características e propriedades gerais

A *Carapa guianensis* (Aublet) é uma grande árvore neotropical que, através da extração de suas sementes, dá origem ao OVA. Esta planta pertencente à família *Meliaceae* é amplamente utilizada na medicina popular no Brasil e em outros países que abrangem a floresta amazônica (PENIDO, *et al.* 2006).

A título de exemplo, o processo de extração artesanal de óleo na Fazendinha, uma área protegida no estado do Amapá, mantém-se pela comunidade ribeirinha devido às propriedades medicinais da andiroba (NARDI, 2016). Tais propriedades advêm da composição do óleo, pois é formado de AGE, incluindo ácidos oleico, palmítico, estearílico e linoleico (ARAUJO-LIMA, *et al.* 2018), que auxiliam na integridade epidérmica da pele (OLIVIA-JAMES, *et al.* 2017). Ademais, possuem limonóides, que apresentam atividade antineoplásica (TAN; LUO, 2011), além de triterpenos, esteróides, cumarinas e flavonóides.

O mercado de produtos farmacêuticos busca o desenvolvimento de produtos com o maior número de componentes de origem vegetal, desbravando a biodiversidade brasileira. Logo, o óleo vegetal de andiroba possui grande apelo

comercial, pois além de ter origem natural, ele se destaca por suas propriedades (FERRARI, 2007).

3.6. Atividades biológicas do óleo vegetal de andiroba

O óleo vegetal extraído da *Carapa guianensis* possui potencial antiinflamatório, visto que contém tetranortriterpenóides responsáveis pela inibição dos processos inflamatórios (DAS GRAÇAS HENRIQUES; PENIDO, 2014). Além disso, em um estudo, Milhomem-Paixão *et al.* (2016) comprova que o OVA apresenta alta capacidade antioxidante para proteger sistemas biológicos de estresse oxidativo.

Devido a tais características, estudos buscaram entender a atividade deste composto no processo de cura. Logo, o OVA mostrou-se eficaz na cicatrização de feridas (BRITO, *et al.* 2001; SILVA, *et al.* 2015). Além disso, devido à sua atividade analgésica, antialérgica e anti-histamínica, o óleo inibe a formação de edema e a hiperalgesia (PENNAFORTE, 2003).

Além disso, este óleo vegetal mostra resultados promissores quanto a sua atividade anticancerígena, e os produtos naturais surgem como alternativas viáveis aos quimioterápicos convencionais, pois também são capazes de inibir as células neoplásicas, mas gerando poucos efeitos colaterais. Os estudos realizados por Porfírio-Dias *et al.* (2020) comprovam que o OVA reduziu significativamente a viabilidade celular da linha ACP02, que deriva de um adenocarcinoma gástrico.

Vale ressaltar a importância deste ativo natural quanto a sua atividade antiplasmódica: Júnior *et al.* (2012) mostrou resultados significantes do óleo contra os clones de *Plasmodium falciparum*. Outrossim, há o desenvolvimento de repelentes a base do óleo extraído das sementes de *Carapa guianensis*, pois através de sua ação inseticida e repelente, consegue afastar os insetos testados (KLAUCK, *et al.* 2014).

3.7. Nanoencapsulação de compostos bioativos

Diversos compostos bioativos vêm sendo empregados em formulações da indústria farmacêutica, pois a atual demanda do consumidor requer produtos mais naturais, substituindo ingredientes sintéticos (BAZANA; CODEVILLA; DE MENEZES, 2019). Os carotenóides se destacam devido à variabilidade de atividades

farmacológicas presentes em seus compostos, como ação antioxidante, antiinflamatória e anticancerígena (CICCONE, *et al.* 2013; LINNEWIEL-HERMONI, *et al.* 2015).

Entretanto, vários fatores limitam a utilização destes compostos naturais em formulações farmacêuticas, como sua baixa estabilidade frente à luz, ao oxigênio e à temperatura, baixa solubilidade aquosa e baixa biodisponibilidade (REZAEI; FATHI; JAFARI, 2019).

De acordo com Mohanraj & Chen (2006, p. 562), o conceito de nanopartículas baseia-se em:

“As nanopartículas são definidas como partículas em dispersão ou partículas sólidas com um tamanho na faixa de 10-1000 nm. O fármaco é dissolvido, aprisionado, encapsulado ou ligado a uma matriz de nanopartículas. Dependendo do método de preparação, nanopartículas, nanoesferas ou nanocápsulas podem ser obtidas”.

As NCP são sistemas em que o princípio ativo pode estar preso a uma cavidade cercada por uma membrana polimérica (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Atualmente, as NCP desenvolvidas com polímeros biodegradáveis são reconhecidas por possuírem uma longa circulação, sendo usadas para entrega de fármacos no organismo, visto que possuem a capacidade de circular por um período prolongado em um determinado alvo biológico (LANGER, 2000; BHADRA, *et al.* 2002).

Logo, a nanoencapsulação de ativos naturais torna-se uma alternativa viável para contornar os problemas de biodisponibilidade e hidrossolubilidade dos compostos. As nanopartículas são responsáveis por aumentar o potencial de solubilização da molécula, alterar a absorção do composto pelas vias do organismo, prevenir a rápida degradação do ativo, facilitando assim a entrega do mesmo (MARTÍNEZ-BALLESTA, *et al.* 2018).

3.8. Nanopartículas contendo luteína

Estudos mostram a eficácia da luteína como possível composto bioativo para compor formulações nanométricas. Do Prado Silva (2017) demonstra a preparação de nanopartículas de polivinilpirrolidona carregadas de luteína a partir do método de dissolução em solvente comum, onde a técnica de encapsulamento possibilitou o

aumento da solubilidade em água da luteína e melhora na memória de ratos sem causar danos inflamatórios. Em outro estudo, através do método de nanoprecipitação, foram preparadas nanocápsulas de luteína com poli-(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) e fosfolípido (PL), comprovando que a mesma não causa toxicidade em ratos (RANGANATHAN; HINDUPUR; VALLIKANNAN, 2016).

Além disso, outros resultados sugerem que nanocápsulas de PLGA-polietileno glicol (PEG) servem como transportadoras eficientes para aumentar a hidrofiliabilidade, biodisponibilidade e potencial anticancerígeno da luteína (ARUNKUMAR, *et al.* 2015). Brum *et al.* (2017) descreve o desenvolvimento de nanocápsulas de núcleo lipídico carreadoras de luteína através do método de deposição interfacial do polímero pré-formado, demonstrando que o método aumenta a possibilidade de uso deste carotenóide na indústria.

3.9. Nanopartículas contendo óleo vegetal de andiroba

O OVA vêm sendo usado como princípio ativo na composição de formulações nanométricas. De acordo com De Souza Marinho (2012) o preparo de uma suspensão de nanocápsulas do óleo de *Carapa guianensis* se deu pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado, resultando na incorporação do óleo ao polímero, formando partículas nanométricas.

Outro estudo contempla o desenvolvimento de uma nanoemulsão de OVA através do método da temperatura de inversão de fases, mostrando que a formulação não apresentou efeitos genotóxicos, citotóxicos ou mutagênicos em testes *in vitro*, apenas apresentou citotoxicidade nas concentrações mais altas *in vivo* (MILHOMEM-PAIXÃO, *et al.* 2017).

Jesus (2017) utilizou um método de baixo consumo de energia e livre de solventes orgânicos para formular nanoemulsões com o OVA, atingindo o objetivo e desenvolvendo uma formulação com uma abordagem ecológica.

4. METODOLOGIA

A suspensão de nanocápsulas (SNCP) foi preparada a partir do método de deposição interfacial do polímero pré-formado (FESSI, 1998) e, após isso, teve suas características físico-químicas avaliadas. Posteriormente, importantes parâmetros foram avaliados, tais como doseamento e eficiência de encapsulação da luteína nas NCP.

4.1. Teste de inchamento de polímero

A fim de avaliar a compatibilidade do OVA com o polímero poli-ε-caprolactona (PCL), foi realizado o teste de inchamento de polímero. O PCL foi solubilizado em acetona até total evaporação do solvente, formando um filme polimérico. O mesmo foi pesado em balança analítica e imerso em OVA utilizando um béquer de 10 mL. A pesagem do filme polimérico se deu após 7 dias e 14 dias, com o objetivo de verificar alterações na massa polimérica decorrentes da interação com o óleo (PAESE, 2008)

4.2. Preparação da suspensão de nanocápsulas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba

Para a obtenção das nanocápsulas foi empregado o método de deposição interfacial do polímero pré-formado (FESSI, 1989). Os componentes da fase orgânica - PCL, monoestearato de sorbitano, luteína e OVA - foram pesados e solubilizados em acetona, e o componente da fase aquosa - polissorbato 80 - foi pesado e solubilizado em água ultrapura (tabela 1). As duas fases foram solubilizadas durante 1 hora com o auxílio de um banho-maria e agitação magnética. Posteriormente, a fase orgânica foi vertida sob a fase aquosa. Esta solução foi mantida sob agitação moderada por 10 minutos e levada ao evaporador rotatório para remoção de parte da água e o excesso de solvente orgânico, resultando em uma formulação com volume final de 10mL. Além disso, foi preparada uma suspensão de nanocápsulas sem a adição de luteína (SNCP-B), seguindo o mesmo processo descrito.

Tabela 1. Composição quantitativa da SNCP

Componentes	SNCP
FASE ORGÂNICA	
Poli-e-caprolactona	0,100g
Monoestearato de sorbitano	0,077 g
Luteína	0,010 g
Óleo vegetal de andiroba	0,160 g
Acetona	27 mL
FASE AQUOSA	
Polissorbatato 80	0,077 g
Água ultrapura	53 mL

4.3. Caracterização físico-química da suspensão de nanocápsulas

4.3.1. Determinação do diâmetro médio das partículas e da polidispersão

O diâmetro médio das partículas ($D[4,3]$) e a polidispersão (Span) (Eq. 1) foram avaliados por meio de difratometria a laser, através de equipamento Mastersizer 2000. Para tal, colocou-se um volume adequado da suspensão em análise até atingir 3% de obscuridade no equipamento, sendo a água destilada o solvente dispersante. Foram utilizados os valores $D[4,3]$, o qual representa o diâmetro médio baseado no volume de partícula, e os valores de 10% ($d_{10\%}$), 50% ($d_{50\%}$) e 90% ($d_{90\%}$) da distribuição, que indicam a porcentagem de partículas que apresentam diâmetro igual ou inferior ao valor determinado

$$\text{SPAN} = (D_{0.9} - D_{0.1}) / D_{0.5}$$

Eq. (1)

4.3.2. Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada com o phmetro (Hanna®) calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0 diretamente nas formulações das nanocápsulas.

4.4. Quantificação da luteína na suspensão de nanocápsulas

A quantificação da luteína nas nanocápsulas foi realizada por meio do método de cromatografia de alta eficiência (CLAE), utilizando as condições cromatográficas a serem testadas para validação do método analítico.

As análises foram realizadas em cromatógrafo Prominence Shimadzu utilizando um detector ultravioleta em 446 nm, coluna RP-18 (5 µm, 150 x 4,6 mm). A fase móvel utilizada é composta de acetonitrila e metanol (80:20) com o fluxo de 1,0 mL/min, e um volume de injeção de 20 µL.

4.5. Eficiência de encapsulação das nanopartículas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba

A eficiência de encapsulação da luteína nas nanocápsulas foi determinada pela técnica de ultrafiltração/centrifugação (Ultrafree - Microcon 10.000 MW, Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). Uma alíquota de SNCP (300 µL) foi transferida para o dispositivo de ultrafiltração e submetida a uma centrifugação de 10.000 rpm por 5 min à temperatura ambiente. O ultrafiltrado, que contém apenas a porção livre do princípio ativo, foi quantificado diretamente por CLAE. O cálculo da eficiência de encapsulação (EE%) (Eq. 2) é feito através da diferença entre as concentrações do ativo total (item 4.4) e livre.

$$EE\% = \frac{\text{Concentração total de luteína} - \text{Concentração de luteína livre}}{\text{Concentração total de luteína}} \cdot 100$$

Eq. (2)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Teste de inchamento de polímero

Após o período de análise, o filme polimérico imerso em OVA sofreu pouca alteração quanto a sua massa, como podemos observar na tabela 2. Tal alteração pode se dar por interferentes externos no momento da pesagem, como o excesso de óleo sobre o filme. Estes resultados corroboram com estudos preliminares que comprovam a biocompatibilidade *in vitro* do PCL incorporado ao OVA (LIMA, 2019), nos mostrando que este polímero é compatível com o óleo selecionado para a formulação de nanocápsula apresentada.

Tabela 2. Variação da massa do filme polimérico de PCL durante os dias.

Dias	Massa
1	0,1480 g
7	0,1499 g
14	0,1497 g

5.2. Preparação da suspensão de nanocápsulas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba

Após o método de deposição interfacial do polímero pré-formado, a suspensão de nanocápsulas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba apresentou aspecto macroscopicamente homogêneo, com uma coloração alaranjada característica da luteína, e um visual opaco, bem como podemos analisar na figura 2. A turbidez que a suspensão apresenta se dá pela presença do polímero utilizado (BRUM, 2018).

Figura 2. Formação da suspensão de nanocápsulas



5.3. Caracterização físico-química da suspensão de nanocápsulas

5.3.1. Determinação do diâmetro médio das partículas e da polidispersão

Os resultados da avaliação das dimensões espaciais das partículas, bem como da distribuição da mesma, é um requisito fundamental para o início do processamento envolvendo sistemas de materiais particulados. A distribuição do tamanho de partícula influi de maneira significativa na nanoestrutura do material, afetando a densidade e as propriedades térmicas e elétricas das formulações (PAPINI, 2003).

Diferentes fatores influenciam no diâmetro e na polidispersão das partículas, sendo a composição quali-quantitativa e o método de preparação das nanopartículas determinantes (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1996). Ademais, a natureza do óleo que se utiliza como núcleo das nanocápsulas também é um fator importante, visto que possuem diferentes propriedades, como viscosidade ou tensão superficial (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003)

Avaliamos dois lotes de SNCP contendo luteína e óleo de andiroba, SNCP-1 e SNCP-2 respectivamente. Além disso, a SNCP-B também foi avaliada por difratometria a laser a fim de determinar a influência da luteína no diâmetro e distribuição granulométrica das nanocápsulas. Os resultados estão descritos na tabela 3 e nos gráficos fornecidos pelo software do equipamento Mastersizer® 2000 (figuras 3, 4 e 5).

Tabela 3. Distribuição granulométrica das nanocápsulas obtida pela técnica de difração a laser

Amostra	d(0,1) (nm)	d(0,5) (nm)	d(0,9) (nm)	D[4,3] (nm)	Span
SNCP-1	163	219	366	395	0,926
SNCP-2	138	176	269	328	0,743
SNCP-B	155	198	311	334	0,786

Figura 3. Distribuição granulométrica baseada no número de partículas para SNCP-1

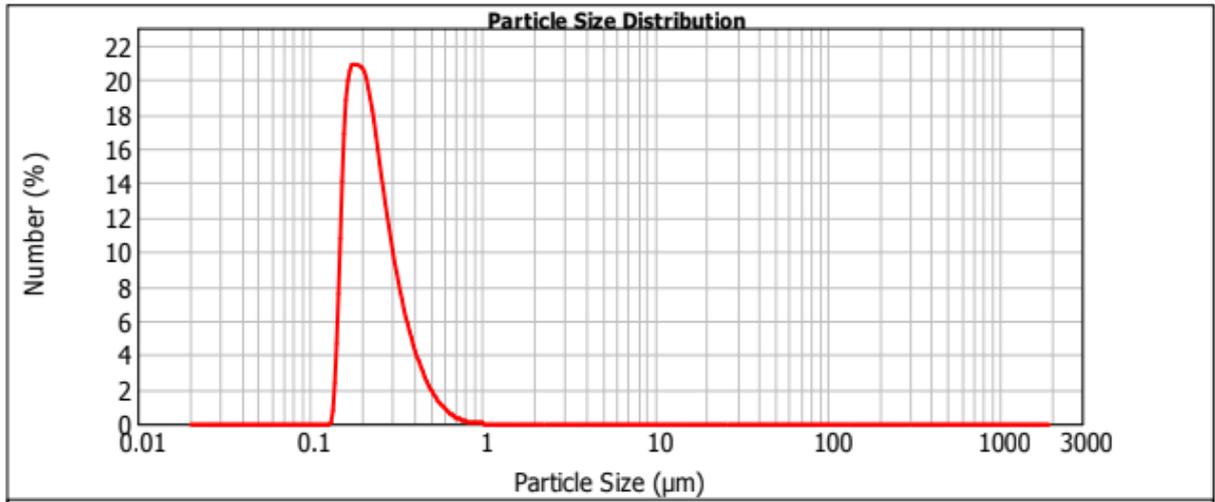


Figura 4. Distribuição granulométrica baseada no número de partículas para SNCP-2

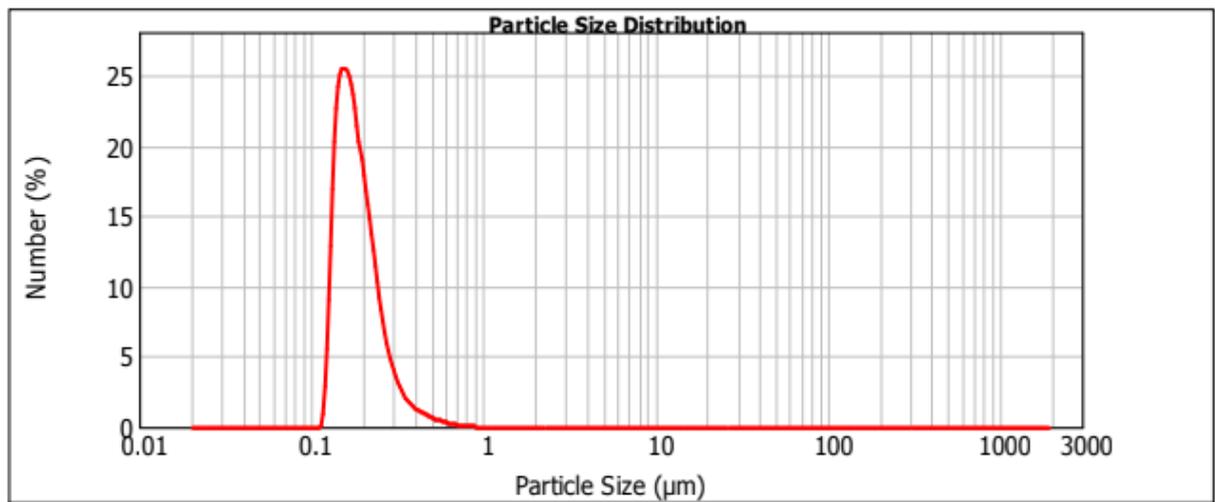
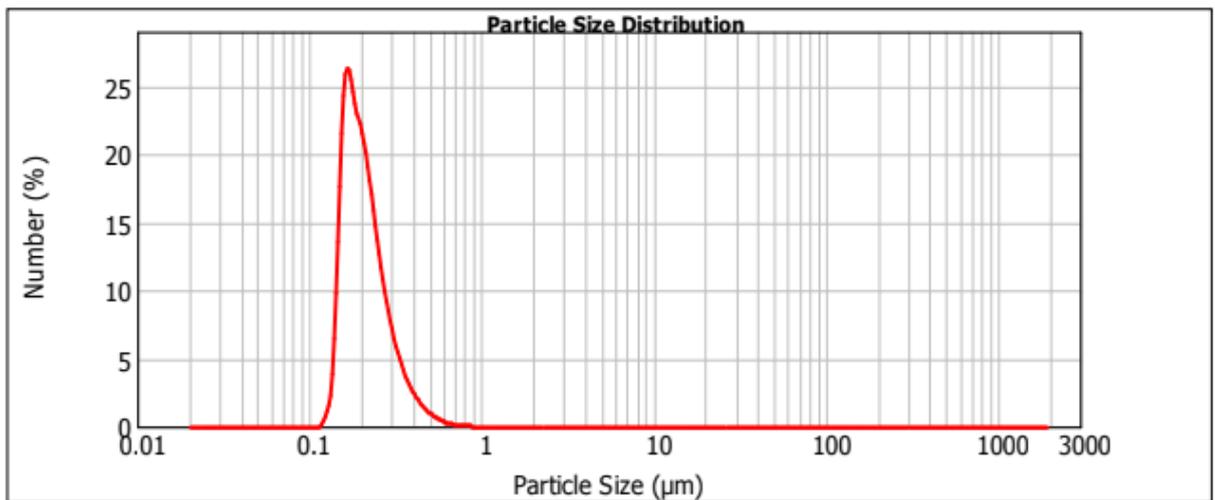


Figura 5. Distribuição granulométrica baseada no número de partículas para SNCP-B



As três formulações apresentaram resultados semelhantes quanto à sua distribuição granulométrica, atendendo ao preconizado pela literatura que sugere que nanocápsulas com o propósito de entrega de fármacos devem apresentar diâmetros menores que 550 nm (COUVREUR, *et al.*, 2002; GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007).

Ademais, todos os valores de Span obtidos no presente estudo foram menores que 1. Sabe-se que, em uma suspensão de nanocápsulas, este valor está relacionado a homogeneidade do tamanho das partículas (DOS SANTOS, 2015) logo, estes valores baixos nos mostram que as formulações têm distribuição granulométrica uniforme.

Através do mesmo método utilizado, Brum *et al.* (2017) obtiveram nanocápsulas de luteína com um diâmetro médio (D[4,3]) de 221 nm e um Span de 1,832. Além disso, resultados semelhantes foram encontrados na obtenção de nanocápsulas de bixina, carotenóide este derivado do urucum: D[4,3] de 195 nm e Span de 1,400 (DE SOUSA LOBATO, 2013).

Heurtault (2003) constatou que as proporções de surfactantes hidrofílicos e triglicerídeos alteram o tamanho e a polidispersão das partículas: quanto mais surfactantes, menor o diâmetro médio das partículas; e quanto menos triglicerídeos, menor o valor de Span. Em um desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas de PCL, Souza *et al.* (2012) notou uma influência negativa do triglicerídeo utilizado em sua formulação quanto à polidispersão, visto que usou 300 mg do mesmo. No atual estudo, com o uso de menos OVA, e conseqüentemente, menos triglicérides, notamos um valor de Span menor que o comparativo, corroborando com Souza *et al.* (2012).

5.3.2. Determinação do pH

O valor de pH é um parâmetro relevante no estudo de sistemas coloidais, visto que pode ser um indicativo da estabilidade química das suspensões, já que sua diminuição pode indicar a degradação do polímero ou outra substância da fórmula. Após a análise em potenciômetro Hanna®, o presente estudo revelou uma característica ácida em todas as formulações, como podemos ver na tabela 4.

Tabela 4. Valores de pH das formulações

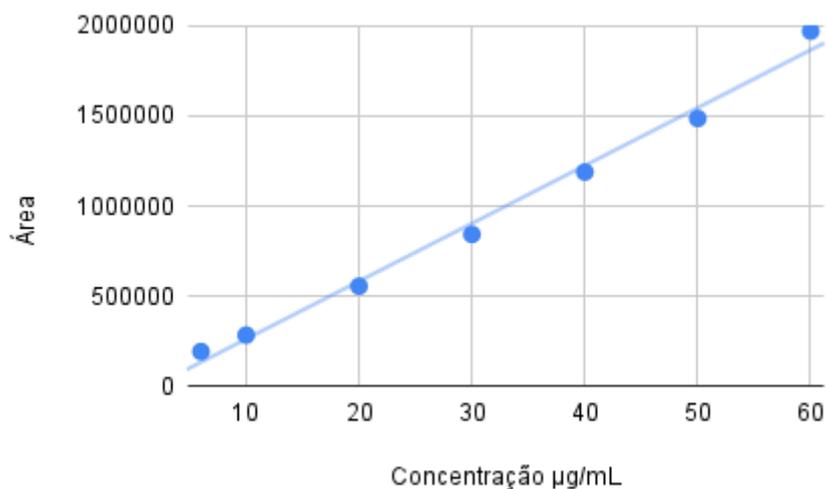
Amostra	pH
SNCP-1	4,20
SNCP-2	4,32
SNCP-B	4,50

Os valores de pH das formulações se apresentaram ácidos principalmente devido a presença de OVA, visto que este óleo possui essa acidez intrínseca. (SOUZA *et al.*, 2020). Além disso, formulações contendo PCL podem sofrer uma diminuição do pH durante a estocagem, visto que há a produção de ácido hidroxicapróico livre como resultado da degradação do polímero (CALVO *et al.*, 1996).

5.4. Quantificação da luteína na suspensão de nanocápsulas

O teor de luteína nas nanocápsulas foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência. Antes das injeções, foi construída uma curva padrão de luteína diluída em acetonitrila. A curva de calibração (Figura 6) foi obtida através da representação gráfica das áreas dos picos de sete diferentes concentrações.

Figura 6. Curva padrão para obtenção da equação da reta



Os cromatogramas foram processados no comprimento de onda máximo de absorção da luteína (446 nm). A luteína foi quantificada de acordo com a equação da reta obtida ($R^2=0,991$) através da curva:

$$y = 32083 \cdot x - 58601 \quad \text{Eq. (3)}$$

Onde:

y corresponde à área do pico no cromatogramas.

x corresponde à concentração de luteína na solução.

A linearidade do método pode ser verificada em uma faixa analítica pela inspeção do coeficiente de determinação (R^2) da curva de calibração (ARAÚJO, 2009). O presente estudo contém um R^2 de 0,991, mostrando forte potencial de ser um método linear. Sendo assim, a concentração do ativo total presente na SNCP-2 foi quantificada, e obteve-se um valor de 4,98 mg/mL. Diante disso, foi calculado o teor de luteína total na formulação (Eq. 4).

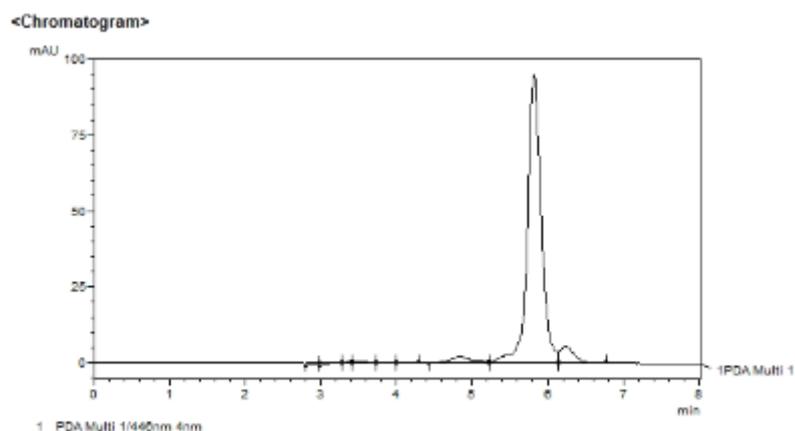
$$\text{Teor de luteína total} = \frac{100,9 \times 49,89}{100} = 50,33\% \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde:

100,9 ug/mL corresponde à concentração teórica de luteína total

49,89 ug/mL corresponde à concentração real de luteína total

Figura 7. Cromatograma da amostra de SNCP-2



Os resultados nos mostram que há uma perda significativa de luteína desde o processo de pesagem, até a evaporação de solventes. Pode-se justificar esta perda pela baixa solubilização da luteína em solventes orgânicos, visto que os carotenóides são solúveis em solventes apolares (PASSOS, 2007). Desta forma, durante a solubilização da fase orgânica, o princípio ativo pode ter ficado preso às paredes da vidraria.

5.5. Eficiência de encapsulação das nanopartículas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba

Após o processo de ultracentrifugação, o ultrafiltrado, que contém apenas a porção livre do princípio ativo, foi acrescido de acetonitrila e quantificado diretamente por CLAE. Com isso, obtivemos uma concentração de 0,02 mg/mL de luteína livre, ou seja, a porção do ativo que não foi encapsulada. Diante disso, com os valores da concentração de luteína total e a concentração de luteína não encapsulada, foi realizado o cálculo de eficiência de encapsulação (EE%), subtraindo os valores a fim de determinar uma porcentagem.

$$EE\% = \frac{4,98 \text{ mg/mL} - 0,02 \text{ mg/mL}}{4,98 \text{ mg/mL}} \cdot 100$$

Eq. (4)

A EE% é um dos testes mais importantes para sugerir a forma de carregamento do ativo na nanocápsula. Neste estudo a EE% foi de 99,59%, sugerindo que a luteína estava presente na nanoestrutura, provavelmente no núcleo lipídico das nanocápsulas dada a lipofilicidade da luteína (LogP = 7,9).

Silva *et al.* (2017) desenvolveu nanocápsulas de poli(vinil pirrolidona) carregadoras de luteína através do método de dissolução em um solvente comum e apresentou uma eficiência de encapsulamento de 87,9%. Em outro estudo, foram obtidas nanocápsulas de poli(ácido lático-co-glicólico)-polietilenoglicol contendo luteína com uma eficiência de encapsulação de 88% (ARUNKUMAR, *et al.* 2015). Os mesmos autores consideraram que a concentração do polímero utilizado afeta as características das nanopartículas, incluindo a taxa de encapsulação.

Brum *et al.* (2018) propôs a formação de nanocápsulas de PCL contendo luteína a partir do método de deposição interfacial do polímero pré-formado, mostrando uma eficiência de encapsulamento de 99,51%. Em outro estudo, através da mesma técnica de nanoencapsulação, os autores obtiveram uma eficiência de encapsulamento de 99% em nanocápsulas de β -caroteno, α -caroteno e luteína.

Lobato *et al.* (2013) aborda que a alta taxa de encapsulamento vista em estudos que utilizam a deposição interfacial polímero pré-formado seja devido à presença de triglicerídeos de cadeia média no núcleo das nanocápsulas, já que auxiliam na solubilização dos carotenóides. Logo, como no presente estudo utilizamos um óleo rico em triglicérides de cadeia média (o OVA), a luteína sofre grande atração pelo núcleo oleoso da nanocápsula, não esvaindo da nanoestrutura.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas contendo luteína e óleo vegetal de andiroba utilizando como polímero a poli-ε-caprolactona (PCL) através do método de deposição interfacial do polímero pré-formado apresentou características físico-químicas adequadas, com tamanho de partícula e polidispersão ideais para o carregamento de substâncias terapêuticas, conforme dados descritos na literatura.

Ademais, o presente estudo apresentou um método linear para a quantificação da luteína presente nas nanocápsulas em suspensão através de cromatografia líquida de alta eficiência. Por meio da quantificação da luteína total e livre na formulação, constatamos uma taxa de encapsulamento alta, corroborando com estudos prévios que utilizaram a mesma técnica.

Através dos resultados obtidos, pode-se sugerir que o sistema coloidal preparado possui compatibilidade entre seus constituintes e características físico-químicas vantajosas, revelando ser uma formulação promissora para emprego terapêutico da luteína.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras, pretende-se finalizar a validação do método proposto para quantificação da luteína por cromatografia líquida de alta eficiência. Ademais, pretende-se realizar estudos de liberação *in vitro* da luteína, bem como o estudo *in vitro* da permeação cutânea das formulações.

Por fim, planeja-se realizar estudos que avaliem a citotoxicidade e o potencial anticancerígeno da suspensão de nanocápsulas de luteína contendo óleo vegetal de andiroba utilizando linhagens de células.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AAL, El-Sayed M. *et al.* Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. *Nutrients*, v. 5, n. 4, p. 1169-1185, 2013.
- AHN, Yu Jin; KIM, Hyeyoung. Lutein as a Modulator of Oxidative Stress-Mediated Inflammatory Diseases. *Antioxidants*, v. 10, n. 9, p. 1448, 2021.
- ALVES-RODRIGUES, Alexandra; SHAO, Andrew. The science behind lutein. *Toxicology letters*, v. 150, n. 1, p. 57-83, 2004.
- AMENGUAL, Jaume. Bioactive properties of carotenoids in human health. *Nutrients*, v. 11, n. 10, p. 2388, 2019.
- ARAUJO-LIMA, Carlos F. *et al.* Antioxidant activity and genotoxic assessment of crabwood (andiroba, *Carapa guianensis* Aublet) seed oils. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2018, 2018.
- ARAUJO, P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B*, v. 877, n. 23, p. 2224–2234, 2009.
- ARUNKUMAR, R. *et al.* Biodegradable Poly (Lactic-co-Glycolic Acid)- Polyethylene Glycol Nanocapsules: An Efficient Carrier for Improved Solubility, Bioavailability, and Anticancer Property of Lutein. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 104, n. 6, p. 2085–2093, 2015.
- BECERRA, Mario Ochoa *et al.* Lutein as a functional food ingredient: Stability and bioavailability. *Journal of Functional Foods*, v. 66, p. 103771, 2020.
- BRUM, Aelson Aloir Santana. DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE NANOCÁPSULAS DE LUTEÍNA. 2018. Tese (Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

CABRAL, Elaine C. *et al.* Typification and quality control of the andiroba (*Carapa guianensis*) oil via mass spectrometry fingerprinting. *Analytical Methods*, v. 5, n. 6, p. 1385-1391, 2013.

CALVO, Pilar; VILA-JATO, José L.; ALONSO, María J. Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 85, n. 5, p. 530-536, 1996.

CHUNG, Rosanna WS *et al.* Lutein exerts anti-inflammatory effects in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, v. 262, p. 87-93, 2017.

CLOWUTIMON, Weerawat *et al.* Development of mass transfer model for chromatographic separation of free lutein and fatty acids in de-esterified marigold lutein. *Food and Bioproducts Processing*, v. 110, p. 6-15, 2018.

COUVREUR, Patrick *et al.* Nanocapsule technology: a review. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, v. 19, n. 2, 2002.

DAS GRAÇAS HENRIQUES, Maria; PENIDO, Carmen. The therapeutic properties of *Carapa guianensis*. *Current pharmaceutical design*, v. 20, n. 6, p. 850-856, 2014.

DE SOUSA LOBATO, Kleidson Brito *et al.* Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. *Food chemistry*, v. 141, n. 4, p. 3906-3912, 2013.

DI PIETRO, Natalia; DI TOMO, Pamela; PANDOLFI, Assunta. Carotenoids in cardiovascular disease prevention. *JSM Atheroscler*, v. 1, n. 1, p. 1002, 2016.

DOS SANTOS, Priscilla Pereira *et al.* Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 17, n. 2, p. 1-11, 2015.

EPLER, Katherine S.; ZIEGLER, Regina G.; CRAFT, Neal E. Liquid chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human

serum and in food. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, v. 619, n. 1, p. 37-48, 1993.

GIAKOUMIS, Evangelos G. Analysis of 22 vegetable oils' physico-chemical properties and fatty acid composition on a statistical basis, and correlation with the degree of unsaturation. *Renewable energy*, v. 126, p. 403-419, 2018.

GRUSZECKI, Wiesław I.; STRZAŁKA, Kazimierz. Carotenoids as modulators of lipid membrane physical properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, v. 1740, n. 2, p. 108-115, 2005.

GUTERRES, Sílvia S.; ALVES, Marta P.; POHLMANN, Adriana R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. *Drug target insights*, v. 2, p. 117739280700200002, 2007.

HEGAZY, Ghada E. *et al.* In vitro dual (anticancer and antiviral) activity of the carotenoids produced by haloalkaliphilic archaeon *Natrialba* sp. M6. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2020.

HEURTAULT, Béatrice *et al.* The influence of lipid nanocapsule composition on their size distribution. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 18, n. 1, p. 55-61, 2003.

HONDA, Masaki *et al.* Differences in bioavailability and tissue accumulation efficiency of (all-E)-and (Z)-carotenoids: A comparative study. *Food Chemistry*, v. 361, p. 130119, 2021.

JESUS, Flávia LM *et al.* Preparation of a nanoemulsion with *Carapa guianensis* aublet (Meliaceae) oil by a low-energy/solvent-free method and evaluation of its preliminary residual larvicidal activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, 2017.

JIANG, Hong *et al.* Dietary vitamin and carotenoid intake and risk of age-related cataract. *The American journal of clinical nutrition*, v. 109, n. 1, p. 43-54, 2019.

JOHNSON, Elizabeth J. The role of carotenoids in human health. *Nutrition in clinical care*, v. 5, n. 2, p. 56-65, 2002.

JÚNIOR, Raimundo Nonato Cardoso Miranda et al. Antiplasmodial activity of the andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) oil and its limonoid-rich fraction. *Journal of ethnopharmacology*, v. 142, n. 3, p. 679-683, 2012.

KAVALAPPA, Yogendra Prasad; GOPAL, Sowmya Shree; PONESAKKI, Ganesan. Lutein inhibits breast cancer cell growth by suppressing antioxidant and cell survival signals and induces apoptosis. *Journal of Cellular Physiology*, v. 236, n. 3, p. 1798-1809, 2021.

KAVALAPPA, Yogendra Prasad; GOPAL, Sowmya Shree; PONESAKKI, Ganesan. Lutein inhibits breast cancer cell growth by suppressing antioxidant and cell survival signals and induces apoptosis. *Journal of Cellular Physiology*, v. 236, n. 3, p. 1798-1809, 2021.

KRINSKY, Norman I.; LANDRUM, John T.; BONE, Richard A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annual review of nutrition*, v. 23, n. 1, p. 171-201, 2003.

LACATUSU, Ioana *et al.* Lipid nanoparticles based on omega-3 fatty acids as effective carriers for lutein delivery. Preparation and in vitro characterization studies. *Journal of functional Foods*, v. 5, n. 3, p. 1260-1269, 2013.

LEE, Erica H. *et al.* Dietary lutein reduces ultraviolet radiation-induced inflammation and immunosuppression. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 122, n. 2, p. 510-517, 2004.

LEM, Drake W. *et al.* A Systematic Review of Carotenoids in the Management of Age-Related Macular Degeneration. *Antioxidants*, v. 10, n. 8, p. 1255, 2021.

LIMA, Klinsmann Thiago. AVALIAÇÃO DE BIOCAMPATIBILIDADE IN VITRO E IN VIVO DE POLICAPROLACTONA (PCL) INCORPORADA COM ÓLEO DE

ANDIROBA. 2019. Dissertação (Bacharel em Biomedicina). Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

LOBATO, K.B.S. *et al.* Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. *Food Chemistry*, v. 141 n.4 p.3906 -3912. 2013.

MAOKA, Takashi. Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of natural medicines*, v. 74, n. 1, p. 1-16, 2020.

MARIANI NETO, Corintio *et al.* Comparative study of the use of HPA Lanolin and breast milk for treating pain associated with nipple trauma. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 40, p. 664-672, 2018.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, Antonio J.; STINCO, Carla M.; MAPELLI-BRAHM, Paula. Skin carotenoids in public health and nutricosmetics: The emerging roles and applications of the UV radiation-absorbing colourless carotenoids phytoene and phytofluene. *Nutrients*, v. 11, n. 5, p. 1093, 2019.

MELO, Karina Motta *et al.* Andiroba oil and nanoemulsion (*Carapa guianensis* Aublet) reduce lesion severity caused by the antineoplastic agent doxorubicin in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 138, p. 111505, 2021.

MILHOMEM-PAIXÃO, Susana Suely Rodrigues *et al.* Andiroba oil (*carapa guianensis* aublet) nanoemulsions: development and assessment of cytotoxicity, genotoxicity, and hematotoxicity. *Journal of Nanomaterials*, v. 2017, 2017.

MILHOMEM-PAIXÃO, Susana Suely Rodrigues *et al.* The lipidome, genotoxicity, hematotoxicity and antioxidant properties of andiroba oil from the Brazilian Amazon. *Genetics and Molecular Biology*, v. 39, p. 248-256, 2016.

MITRA, Saikat *et al.* Potential health benefits of carotenoid lutein: An updated review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 154, p. 112328, 2021.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles-a review. Tropical journal of pharmaceutical research, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

NARDI, Mariane *et al.* Artisanal extraction and traditional knowledge associated with medicinal use of crabwood oil (*Carapa guianensis* Aublet.) in a Peri-Urban Várzea environment in the Amazon estuary. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 2016, 2016.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 5281243, Lutein. Retrieved July 27, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lutein>.

OLIVEIRA, Iara dos Santos da Silva *et al.* *Carapa guianensis* Aublet (andiroba) seed oil: Chemical composition and antileishmanial activity of limonoid-rich fractions. BioMed Research International, v. 2018, 2018.

OUYANG, Bo *et al.* The protective role of lutein on isoproterenol-induced cardiac failure rat model through improving cardiac morphology, antioxidant status via positively regulating Nrf2/HO-1 signalling pathway. Pharmaceutical Biology, v. 57, n. 1, p. 529-535, 2019.

PAPINI, CLAUDEMIR J. Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula. 2003.

PASSOS, R. Extração e caracterização química de carotenoides provenientes de biomassas de interesse para a aquicultura. 2007. 88fls. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC: 2007.

PORFÍRIO-DIAS, Clara L. *et al.* Andiroba oil (*Carapa guianensis* Aubl) shows cytotoxicity but no mutagenicity in the ACPP02 gastric cancer cell line. Journal of Applied Toxicology, v. 40, n. 8, p. 1060-1066, 2020.

QUINTANAR-GUERRERO, D. *et al.* Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly (D, L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 143, n. 2, p. 133-141, 1996.

RAMADAN, Mohamed Fawzy; AMER, Mohamed Mostafa Afify; SULIEMAN, Abd El-Rahman Mohamed. Correlation between physicochemical analysis and radical-scavenging activity of vegetable oil blends as affected by frying of French fries. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 108, n. 8, p. 670-678, 2006.

RAO, A., & RAO, L. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207–216. doi:10.1016/j.phrs.2007.01.012

ROBERTS, Richard L.; GREEN, Justin; LEWIS, Brandon. Lutein and zeaxanthin in eye and skin health. *Clinics in Dermatology*, v. 27, n. 2, p. 195-201, 2009.

ROBERTS, Richard L. Lutein, zeaxanthin, and skin health. *American Journal of Lifestyle Medicine*, v. 7, n. 3, p. 182-185, 2013.

RODRIGUEZ-CONCEPCION, Manuel *et al.* A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in lipid research*, v. 70, p. 62-93, 2018.

SCHAFFAZICK, Scheila Rezende *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química nova*, v. 26, p. 726-737, 2003.

SHI, X.-M.; CHEN, F. Stability of lutein under various storage conditions. *Food/Nahrung*, v. 41, n. 1, p. 38-41, 1997.

SILVA, Jessica Thaís do Prado *et al.* Nanoencapsulação de luteína e avaliação in vivo da sua influência sobre a memória. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SILVA, Leirson Rodrigues. Propriedades físico-químicas e perfil dos ácidos graxos do óleo da andiroba. *Nativa*, v. 6, n. 2, p. 147-152, 2018.

SINDHU, Edakkadath R.; PREETHI, Korengath C.; KUTTAN, Ramadasan. Antioxidant activity of carotenoid lutein in vitro and in vivo. 2010.

SOUZA, Patrícia Moraes Sinohara *et al.* Desenvolvimento de nanocápsulas de poli- ϵ -caprolactona contendo o herbicida atrazina. *Química Nova*, v. 35, p. 132-137, 2012.

SOUZA, Sara Freitas de *et al.* EFICIÊNCIA DOS ÓLEOS DE ANDIROBA, COPAÍBA E PINHÃO MANSO NA MELHORIA DA RESISTÊNCIA DA MADEIRA DE *Pinus elliotii* A FUNGOS APODRECEDORES. *Revista Árvore*, v. 44, 2020.

STAHL, Wilhelm; SIES, Helmut. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, v. 24, n. 6, p. 345-351, 2003.

STAHL, Wilhelm; SIES, Helmut. Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 15, n. 5, p. 291-296, 2002.

WANZELER, Ana Márcia Viana *et al.* Therapeutic effect of andiroba oil (*Carapa guianensis* Aubl.) against oral mucositis: an experimental study in golden Syrian hamsters. *Clinical Oral Investigations*, v. 22, n. 5, p. 2069-2079, 2018.

YOUNG, Andrew J.; LOWE, Gordon L. Carotenoids—antioxidant properties. *Antioxidants*, v. 7, n. 2, p. 28, 2018.

ZENI, Ana Lúcia Bertarello; CAMARGO, Anderson; DALMAGRO, Ana Paula. Lutein prevents corticosterone-induced depressive-like behavior in mice with the involvement of antioxidant and neuroprotective activities. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 179, p. 63-72, 2019.

ŽMITEK, Katja et al. Dietary lutein supplementation protects against ultraviolet-radiation-induced erythema: Results of a randomized double-blind placebo-controlled study. *Journal of Functional Foods*, v. 75, p. 104265, 2020.