



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA-UnB  
FACULDADE DE CEILÂNDIA-FCE  
CURSO DE FARMÁCIA

AMANDA CRISTINA SILVA LIMA MONICI

PRODUÇÃO, OTIMIZAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE  
SILICATOS PARA O TRANSPORTE DE  
COMPOSTOS DE INTERESSE TERAPÊUTICO

BRASÍLIA  
2020

AMANDA CRISTINA SILVA LIMA MONICI

# PRODUÇÃO, OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE SILICATOS PARA O TRANSPORTE DE COMPOSTOS DE INTERESSE TERAPÊUTICO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade de Brasília –  
UnB – Faculdade de Ceilândia como  
requisito parcial para obtenção do título de  
bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Anderson de Jesus  
Gomes

Coorientadora: Prof. Dra. Claire Nain  
Lunardi Gomes

BRASÍLIA  
2020

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Sp           Silva Lima Monici, Amanda Cristina  
              PRODUÇÃO, OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS  
              DE SILICATOS PARA O TRANSPORTE DE COMPOSTOS DE INTERESSE  
              TERAPÊUTICO / Amanda Cristina Silva Lima Monici; orientador  
              Anderson de Jesus Gomes; co-orientador Claire Nain Lunardi  
              Gomes. -- Brasília, 2020.  
              54 p.

              Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de  
              Brasília, 2020.

              1. Nanopartículas. 2. Nanopartículas de Sílica. 3.  
              Berberina. 4. Nanotecnologia. I. de Jesus Gomes, Anderson,  
              orient. II. Nain Lunardi Gomes, Claire, co-orient. III.  
              Título.

AMANDA CRISTINA SILVA LIMA MONICI

**PRODUÇÃO, OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE  
NANOPARTÍCULAS DE SILICATOS PARA O TRANSPORTE DE  
COMPOSTOS DE INTERESSE TERAPÊUTICO**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Prof. Dr. Anderson J. Gomes  
Matrícula 1027808  
Universidade de Brasília  
Faculdade de Ceilândia



---

Prof. Dr. Anderson de Jesus Gomes  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB  
Orientador

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claire N. Lunardi Gomes  
Universidade de Brasília  
Faculdade de Ceilândia  
Matricula: 1026275



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claire Nain Lunardi Gomes  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB  
Co-Orientadora

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Alves Arede  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB

---

Prof. Dr. Odair Antônio Barbizan  
Instituto Federal de Ciências e Tecnologias – Rondônia – IFRO

Brasília, 2020



### ***Dedicatória***

*Este trabalho é dedicado a todos os meus pais, avós, irmãos e ao Breno, que são meu suporte em cada escolha e desafio.*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiramente à Deus, que foi meu mentor e guia em todas as decisões. Agradeço à minha avó Deja que esteve à frente da minha formação base e me deu liberdade para que eu possa ganhar o mundo, à minha mãe Adriana por me apoiar em todos os momentos, à minha mãe Débora por me dar suporte, os melhores conselhos e sempre levar conforto ao meu coração, ao meu pai por ser porto seguro e sempre acreditar na minha capacidade me fazendo ser quem sou hoje. Aos meus avós Edson e Regina por estarem sempre presentes e carinhosos, aos meus irmãos por serem o motivo inicial de eu querer ser melhor a cada dia e à minha família como um todo por cada contribuição para minha formação e pela torcida maravilhosa pelo meu sucesso.*

*Agradeço ao Breno por ter me dado apoio em todas as decisões e aceitar fazer parte de todas as minhas fases, obrigada por ser tão honesto e disposto, agradeço também à sua família por sempre acreditar no meu potencial e me deixar fazer parte dela de maneira tão fácil e natural.*

*Agradeço aos professores por estarem presentes em toda a minha caminhada da graduação e me fornecerem tanto conhecimento, obrigada a todos por todo suporte e confiança. Em especial aos professores Drs Anderson e Claire por me acolherem desde o segundo semestre como parte da família do FotoNanobiotec Lab e me ensinarem tanto, a confiança de vocês foi a minha base em momentos de sobrecarga, obrigada por todo carinho, paciência e apoio, fazer parte desse laboratório tem sido gratificante e engrandecedor em todos os sentidos. Agradeço a todos que passaram pelo Laboratório nesse tempo, poder trabalhar com vocês foi maravilhoso! Agradeço de forma especial também à professora Dra Camila Arede por estar sempre disponível e por fazer o seu trabalho com tanto carinho para conosco, obrigada por todo ensinamento e auxílio.*

*Agradeço de maneira especial a todos os meus amigos que caminharam comigo nesta fase, agradeço à Deus por tê-los colocado na minha vida. Vocês foram extremamente importantes nessa fase. Agradeço pelos nossos truccos, pelo dominó e cineCAFARMA, que foram momentos de descontração em meio a tanta pressão. Vocês, amigos, me inspiraram com a força de vontade, histórias e ombro amigo. Obrigada por tanto! Aos amigos que fiz ao longo desse caminho e até mesmo antes dele, obrigada pela amizade de vocês e por serem sempre tão solícitos e presentes.*

*Agradeço também às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPDF pelo apoio financeiro concedido e à Universidade de Brasília por me proporcionar um ensino de qualidade e todos os recursos necessários para alcançar conhecimento.*

### Epígrafe

*“Nenhuma luta pode ter sucesso sem mulheres participando lado a lado com os homens. Há dois poderes no mundo: um é a espada e o outro a caneta (Malala Yousafzai).”*

## RESUMO

Há grandes esforços em todo o planeta pela busca de terapias eficazes e com o mínimo de eventos adversos e colaterais associados. Neste contexto o estudo da nanotecnologia vem ganhando cada vez mais interesse e força. Nanopartículas (NPs) têm, atualmente, diversas possibilidades de aplicação como em indústrias cosméticas, biotecnologia e medicina. Por seu tamanho reduzido e suas propriedades, diferentes das apresentadas pelo mesmo material quando macromolecular, despertam curiosidade e aplicações como sistema de entrega de fármacos (Melo & Pimenta, 2004).

As Nanopartículas de Sílica (NPSi) são amplamente estudadas e elucidadas, suas características de encapsulamento, possibilidade de modificação de formato e superfície, além da possibilidade de alcançar tamanhos reduzidos e aumentar a fluorescência de alguns compostos fornece a estas NPs visibilidade na área de desenvolvimento de novas tecnologias (Jeelani *et al*, 2019). Estes materiais são considerados seguros para o consumo em até 1500 mg por dia conforme a FDA preconiza (Diab *et al*, 2017).

Embora utilizada há muitos anos na cultura milenar chinesa como tratamento para distúrbios no trato gastrointestinal, a berberina (BER) possui diversas propriedades sistêmicas recentemente descobertas (Kumar *et al*, 2015; Preninger, 1986). Sua absorção é prejudicada devido ao efluxo através da glicoproteína P e o que consegue ser absorvido passa por metabolismo de primeira passagem através da ação do Citocromo P450 (Zhang *et al*, 2013). Dessa maneira, é possível inferir que para esta molécula chegar a um local sistêmico de ação em quantidade suficiente para promover a ação desejada, é necessário protegê-la e, mesmo protegendo-a, como possui efeitos descritos em vários sistemas, é necessário um melhor direcionamento para garantir a segurança e eficácia do uso desta molécula de interesse terapêutico.

Seguindo as premissas supracitadas, o presente trabalho apresenta a síntese, otimização da produção e caracterização de Nanopartículas de Sílica contendo Berberina (NPSi-BER) encapsulada, de maneira a buscar alternativas seguras para uma administração eficiente e sustentada da molécula de interesse terapêutico, baseando-se em estudos prévios que demonstraram possibilidade de melhoria de

detecção da BER (Liu, 2018) e eficácia contra o câncer em rotas de síntese diferenciadas (Halimani *et al*, 2009), porém contendo a mesma base de NPSi e BER.

A produção das NPSi-BER foi realizada pelo método sol-gel (stober *et al*, 1968), sua otimização se deu pela variação das quantidades do precursor, catalizador e solvente utilizando a rotina de planejamento experimental Box-Behken no *Software Design Expert* versão 7, que fornece dados estatísticos das análises dos parâmetros escolhidos como objetivos que foram uma alta eficiência de encapsulamento, com tamanho reduzido.

A caracterização por diversas técnicas espectroscópicas e morfológicas demonstrou a obtenção de nanopartículas pequenas (<100 nanômetros), com distribuição de tamanho homogêneo sendo visualizado por meio do índice de polidispersividade baixo (<0,1) e microscopia eletrônica de varredura, que também demonstrou o formato esférico, característico das NPSi. Espectros comparativos de absorção de luz, emissão de fluorescência e análise por infravermelho demonstraram que houve encapsulamento da BER, com modificação do potencial zeta, sendo as NPSi-BER mais negativas do que NPSi vazias. A cinética de liberação demonstrou o relaxamento do gel, com liberação completa após 50 horas armazenadas em água a temperatura ambiente, dessa maneira estas condições não são próprias para o seu armazenamento, sendo preferível mantê-las secas ou congeladas contendo baixa quantidade de água.

Palavras-chave: Nanopartículas, Nanopartículas de Sílica, Berberina.

## ABSTRACT

There are great efforts across the planet by the search of effective therapies and with few adverse and side effects associated. In this context the Nanotechnology study has been gaining interest and strength. Nanoparticles have several possibilities of use as cosmetic industries, biotechnology, and medicine. Its small size and different properties, arouse curiosity and applications such as the drug delivery system (Melo & Pimenta, 2004).

Silica Nanoparticles (SiNP) are widely studied and elucidated, its encapsulation characteristics, surface and possible shape modification, besides the small size and increase the fluorescent properties of several compounds, give them visibility in the area of technologies development (Jeelani *et al*, 2019). These materials are considered safe up to 1500 milligrams per day according to FDA (Diab *et al*, 2017).

Although Berberine (BER) has been used for many years in the ancient Chinese culture as gastrointestinal tract disorders treatment, recent discoveries have shown several systemic properties (Kumar *et al*, 2015; Preninger, 1986). Berberine has impaired absorption due to efflux by the action of the P glycoprotein and first-pass metabolism through the action of CYP450. So that the berberine arrives in sufficient quantity to promote systemic effect it is paramount to protect it and direct it to ensure safety and effectiveness.

This work presents the synthesis, production optimization and characterization of silica nanoparticles encapsulating berberine (SiNP-BER) aiming safe alternatives for efficient and sustained administration, based on previous studies that demonstrated the possibility of improvement on the detection (Liu, 2018) and effectiveness against cancer (Halimani *et al*, 2009), both through different synthesis routes but with the same materials (silica nanoparticles and berberine).

The synthesis was performed by the sol-gel method (Stober *et al*, 1968) and the production optimization was performed by varying the amounts of precursor, catalyst and solvent, using the experimental routine Box-Behken in the Design Expert software. The chosen parameters were high encapsulation efficiency and small size.

The characterization by morphological techniques demonstrated the achievement of small nanoparticles (<100 nanometers) with uniform size distribution by the low polydispersity index (<0,1) and observed from scanning electron

microscopy, which also demonstrated the characteristic spherical shape. Comparative absorption spectrum of ultraviolet and visible light, fluorescence emission and infrared analysis demonstrated that there was BER encapsulation, with modification of Zeta potential, as SiNP-BER more negative than empty SiNP. The release kinetics demonstrated the relaxation of the gel, with complete release after 50 hours stored in water at room temperature, so these conditions are not suitable for its storage, being preferable to keep them dry or frozen containing low amount of water

Keywords: Nanoparticles, Silica Nanoparticles, Berberine.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do composto BER, adaptadas pela autora utilizando o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc® (Barbizan, 2019).....	19
Figura 2 - Perfil de liberação do fármaco em função do tempo adaptadas pela autora utilizando-se o software GraphPad Prism 8 (Morais, 2017). ....	21
Figura 3 - Estrutura molecular do composto Tetraetilortosilicato (TEOS), adaptadas pela autora utilizando-se o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc (Diab <i>et al</i> , 2017). ....	23
Figura 4 - Estruturas formadoras das NPSi, adaptadas pela autora utilizando-se o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc (Diab <i>et al</i> , 2017; Picolo <i>et al</i> , 2018). ....	24
Figura 5 - Estrutura molecular do composto BER, adaptadas pela autora utilizando o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc® (Barbizan, 2019).....	25
Figura 6 - Representação da obtenção das Nanopartículas, obtido a partir do software Biorender feito pela autora.....	31
Figura 7 - Gráfico contendo o espectro de absorção na região do UV-Vis da NPSi, NPSi-BER e BER em solução. Obtido através do <i>Software UV Solutions® 3.0</i> e ajustado no <i>software GraphPad Prism® 8.0.2</i> . ....	40
Figura 8 - Gráfico contendo o espectro de emissão de Fluorescência da NPSi, NPSi contendo BER e BER. Obtido a partir do <i>FL Solutions® versão 2.1</i> e ajustado no <i>software GraphPad Prism® 8.0.2</i> .....	41
Figura 9 - Análise do perfil de liberação, das NPSi-BER contendo os resultados previstos pelos modelos de Weibull. Obtido pelo <i>software KinetDS3®</i> e ajustado no <i>software GraphPad Prism® 8.0.2</i> . Condições: Temperatura ambiente (15° C a 35° C) em água deioniza .....	43
Figura 10 - Espectro FTIR da BER e NPSi-BER secas em KBr com aproximadamente 40 mg sendo aproximadamente 2% de amostra. Gráfico obtido a partir do <i>software IRsolution® versão 1.50</i> e manipulado posteriormente no <i>software GraphPad Prism® versão 8.0.2</i> .....	44

Figura 11 - Microscopia Eletrônica de Varredura de NPSi-BER visto sob um aumento de 15000 vezes, operando a 11,3 kV no modo de detecção de retro espalhamento de elétrons (BSED Detector).....45

Figura 12 - Microscopia Eletrônica de Varredura de NPSi-BER visto sob um aumento de 100000 vezes, operando a 12,2 kV no modo de detecção de retro espalhamento de elétrons (BSED Detector).....45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros experimentais obtidos a partir de estabelecimento de valores mínimos e máximos pelo software de planejamento experimental Box-Behnken. (Fonte: dados obtidos no software Design Expert tabela adaptada pelo autor, 2020). .....	32
Tabela 2 - Modelos matemáticos utilizados para avaliação da cinética de liberação de fármacos das NPSi-BER (Fonte: Conceição, 2019). ....	34
Tabela 3 - Proporções otimizadas para a produção de NPSi contendo BER, dados obtidos a partir do <i>software</i> de planejamento experimental Box-Behnken. Dados extraídos do <i>software Design Expert</i> e adaptados pelo autor, 2020. ....	37

## LISTA DE ABREVIATURAS

Berberina – BER

Citocromo P 450 - CYP450

European Food Safety Authority - EFSA

Food and Drug Administration – FDA

Lipoproteína de baixa densidade - LDL

Nanopartículas - NP

Nanopartículas de Sílica – NPSi

Nanopartículas de Sílica contendo berberina – NPSi-BER

Nanopartículas mesoporosas de sílica - NMSi

Proteína quinase ativada por AMP – AMPK

Proteína quinase regulada por sinal extracelular - ERK

Sílica - SiO<sub>2</sub>

Tetraetilortosilicato – TEOS

Vírus da imunodeficiência humana – HIV

Ultravioleta visível – UV-vis

## SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT .....	10
LISTA DE FIGURAS .....	12
LISTA DE TABELAS .....	14
LISTA DE ABREVIATURAS.....	15
SUMÁRIO.....	16
1. INTRODUÇÃO .....	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	20
2.1. Sistema de entrega de fármacos.....	20
2.2. Nanopartículas no contexto de nanomedicina.....	21
2.3. Nanopartículas de Sílica.....	22
2.4. Berberina.....	24
3. OBJETIVOS .....	27
3.1. Objetivos Gerais.....	27
3.2. Objetivos Específicos .....	27
4. JUSTIFICATIVA .....	28
5. METODOLOGIA.....	29
5.1 Materiais:.....	29
5.1.1. Reagentes .....	29
5.1.2. Equipamentos .....	29
5.2. Métodos.....	30
5.2.1. Produção das nanopartículas.....	30
5.2.2. Otimização das nanopartículas .....	31
5.2.3. Caracterização das Nanopartículas .....	33

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
7. CONCLUSÃO.....	46
8. REFERÊNCIAS.....	47

## 1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia compreende o estudo de materiais de nível atômico a molecular, sendo a escala de tamanho correspondente a  $10^{-9}$  metros. Está presente em inúmeras áreas, como a biotecnologia, biologia molecular, medicina eletrônica, indústria farmacêutica, entre outras (Maziero *et al*, 2016). Esta tecnologia está presente na civilização há milhares de anos, de forma empírica, como seu uso na pintura chinesa (tinta nanquim) ou nos vitrais religiosos em que as propriedades óticas se mostram diferentes dependentes do tamanho das partículas de ouro (Melo & Pimenta, 2004).

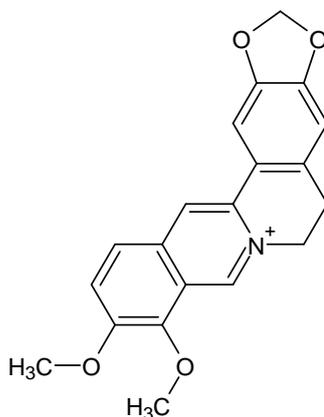
O tema “Nanopartículas” (NP) vem sendo amplamente estudado nos últimos anos. Estima-se que a palestra do, então considerado pai da nanotecnologia, Richard Feynman intitulada “Há mais espaços lá embaixo”, em 1959 tenha dado início à publicidade desse tema (Schulz, 2018). Um dos pontos principais que faz essa temática ser altamente atrativa é o controle da forma e tamanho de nanomateriais que possibilita a obtenção de diferentes propriedades físico-químicas, estas por sua vez não seguem o padrão estabelecido em macromateriais compostos pelos mesmos átomos (Melo & Pimenta, 2004).

Como aplicação, a área da nanomedicina tem um papel de destaque, com diversos estudos nos setores de tratamentos e diagnósticos. Dentro desta área encontram-se os sistemas de entrega controlada de fármacos, que compreendem a criação e modificação de nanomateriais contendo alguma propriedade terapêutica buscando direcionar a entrega e reduzir efeitos adversos e colaterais. Como exemplos podem ser citadas as aprovações dos medicamentos Doxil® e Abraxane®, voltados para o tratamento de câncer pela FDA (Food & Drug Administration) (Cancino *et al*, 2014).

Inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas com a finalidade de se encontrar terapias diferenciadas e efetivas para as mais diversas enfermidades. As Nanopartículas de Sílica (NPSi) têm sido amplamente estudadas e avaliadas como possíveis carreadores de fármacos e como sondas para novas técnicas de imageamento (Jeelani *et al*, 2019) por suas características de tamanho, biocompatibilidade, baixa toxicidade, amorfismo e por serem quimicamente inertes (Ribeiro, 2013).

Em nossos estudos foi escolhido como molécula modelo a Berberina (BER), com representação da sua estrutura molecular na figura 1, que é um alcaloide isoquinolínico, inicialmente obtido a partir de diversas famílias de plantas, como a Berberidaceae, Papaveraceae, Fumaraceae, Menispermaceae entre outras (Preninger, 1986). É amplamente difundida na cultura milenar chinesa e medicina Ayurveda por suas propriedades associadas a melhora de sintomas do trato gastrointestinal como antidiarreica, antiparasitária, antimicrobiana e inibidora da motilidade gastrointestinal (Kumar *et al*, 2015; Preninger, 1986). Esta molécula tem várias outras propriedades farmacoterapêuticas como antidiabética (Pang *et al*, 2015), antimicrobiana (More *et al*, 2017), nefroprotetora (Tang *et al*, 2014), neuroprotetora (Soudi *et al*, 2019), vasodilatadora (Ma *et al*, 2017), antitumoral em diversos tipos de cânceres (Kumar *et al*, 2020), entre outras.

Figura 1 - Estrutura molecular do composto BER, adaptadas pela autora utilizando o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc® (Barbizan, 2019).



## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

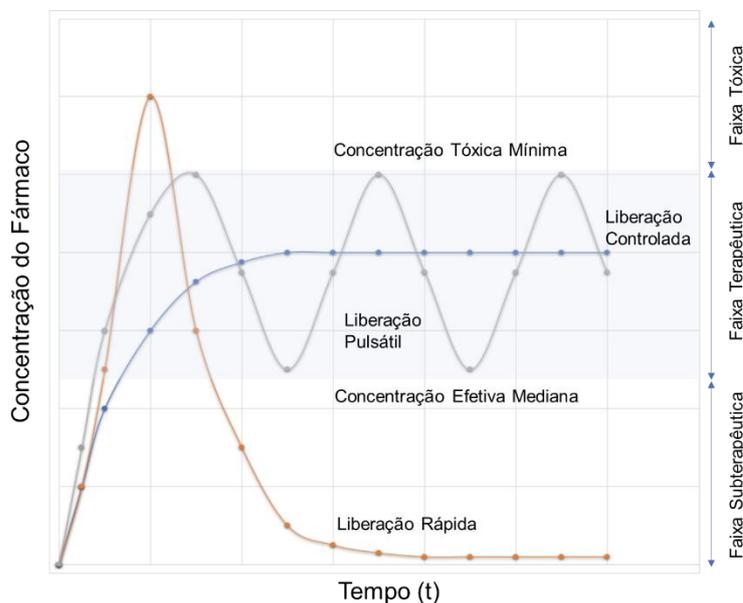
### 2.1. Sistema de entrega de fármacos

Uma terapêutica eficiente é baseada no uso racional de medicamentos, recomendada pela Organização Mundial da Saúde, que consiste em administrar o medicamento correto, com uma finalidade adequada às necessidades do paciente no momento em que se faz necessário, sendo assim deve ser também acessível (Esther, 2017). Algumas barreiras bem definidas na adesão e garantia de eficácia do tratamento consistem nas características organolépticas, físico-químicas, farmacocinéticas, farmacológicas e toxicológicas (Chung *et al*, 2005). Nesse sentido, é possível notar os esforços da indústria farmacêutica e de instituições públicas e privadas de ensino do mundo como um todo em realizarem estudos voltados à possibilidade de desenvolvimento de condutas terapêuticas que possam ser inteiramente eficientes, buscando resultados clínicos seguros e cada vez mais rápidos (Silva *et al*, 2010).

Um fármaco ideal possui especificidade de forma suficiente a atingir os efeitos desejados e reduzir os efeitos indesejáveis, principalmente quando se trata de moléculas citotóxicas (Xavier, 2011). Porém, essa idealização é algo difícil de atingir apenas com a modificação da molécula e pode ser destacado também que o desenvolvimento de novas moléculas e fármacos é um processo caro e demorado (Tiwari *et al*, 2012), com isso caminhos alternativos, como o desenvolvimento de estruturas que possam realizar uma entrega específica e sustentada são almejados.

Os métodos convencionais de administração e distribuição de fármacos tendem a elevar de forma rápida a concentração plasmática, distribuindo de forma sistêmica uma alta quantidade da molécula em questão e levando também de forma rápida a sua metabolização pelo organismo. Esses fatores podem induzir a toxicidade e também ter efeitos desejáveis dependentes da perfusão do local de interesse (Morais, 2017). O estabelecimento de sistemas eficientes de entrega de fármacos tende a buscar um direcionamento da molécula de interesse e sustentação da liberação, alcançando estes objetivos seria possível reduzir a toxicidade e garantir uma terapêutica eficaz prolongada, como demonstrado na figura 2.

Figura 2 - Perfil de liberação do fármaco em função do tempo adaptadas pela autora utilizando-se o software GraphPad Prism 8 (Morais, 2017).



Os sistemas convencionais possuem perfis de rápida liberação (como por exemplo a administração endovenosa) e de liberação pulsátil (por exemplo em caso de múltiplas administrações por via oral), enquanto sistemas de entrega de fármacos buscam uma curva semelhante à de liberação controlada.

O tema “Sistema de Entrega de Fármacos” diz respeito a dispositivo ou formulação que viabiliza a introdução de fármacos em organismos vivos, e é um processo que compreende a administração, biodistribuição e transporte através das membranas biológicas (Morais, 2017). Dessa maneira, dissertar sobre a entrega do fármaco, consiste em trazer à tona conceitos de farmacocinética, pois é essencial uma via de administração eficiente, que garanta a absorção de porção significativa, uma distribuição coerente para que a molécula de interesse possa chegar em quantidade adequada no local de ação objetivado, além de um transporte através de membranas suficientes com o intuito de promover a ação esperada.

## 2.2. Nanopartículas no contexto de nanomedicina

Atualmente, existem numerosos esforços que visam o desenvolvimento de novas tecnologias de entrega eficiente de fármacos (Wang *et al*, 2018), entre elas podemos destacar os nanomateriais. Trata-se de um sistema moderno e versátil com aplicabilidade nas mais diversas áreas como terapias antitumorais, terapias gênicas, radioterapia, terapias anti-HIV, antibióticos, entre outras (Tiwari *et al*, 2012).

As nanopartículas apresentam suas particularidades e características próprias, diferentes daquelas existentes em macroestruturas, mesmo que os componentes primordiais sejam os mesmos. Essas diferenças ocorrem devido à evidência de que os efeitos quânticos são manifestados nestas dimensões e ao aumento da proporção entre a área e volume da superfície do nanomaterial (Melo & Pimenta, 2004). Dessa maneira, a interação diferenciada da superfície dos nanomateriais pode ser aumentada de forma satisfatória por meio de funcionalizações, garantindo maior especificidade à terapêutica, além de diversos outros ganhos que são provenientes de suas particularidades.

A aplicabilidade das nanoestruturas na medicina se deve a possibilidade de molde estrutural, tamanho, biocompatibilidade, alta área de superfície e possibilidade de funcionalização (Jeelani, 2019). A nanomedicina tem como base a busca por nanoestruturas com aplicabilidade no diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças (Rocha, K., 2018).

O imageamento e uso de biossensores com a aplicação de nanoestruturas visa a caracterização e localização correta a fim de rastrear doenças ou parasitas, a busca por um diagnóstico precoce e/ou assertivo levando em consideração melhores prognósticos e planejamento de terapêuticas mais específicas. Para esta finalidade, em geral, são estudadas e usadas as chamadas nanopartículas fluorescentes, das quais as nanopartículas de sílica fazem parte (Rama *et al*, 2012).

A entrega de fármacos por nanopartículas busca melhorar a biodisponibilidade e a entrega seletiva, reduzindo dessa maneira os efeitos indesejáveis (Crommelin & Florence, 2013). A possibilidade de liberação sustentada e seletiva (Mir *et al*, 2017) faz com que muitos esforços sejam direcionados a fim de melhorar a entrega de fármacos já existentes e de efeitos conhecidos. É importante mencionar que com o tamanho reduzido e as características físico-químicas diferenciadas, deve-se seguir protocolos bem descritos e realizar diversos testes *in vitro* antes de direcionar o material para uso, tendo em vista a alta capacidade de travessia de barreiras biológicas (Mohammadi *et al*, 2018).

### **2.3. Nanopartículas de Sílica**

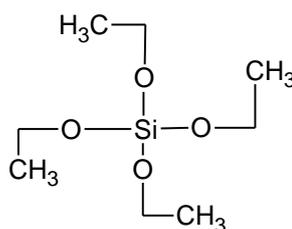
A sílica (SiO<sub>2</sub>) é um material encontrado abundantemente pelo planeta em minerais, plantas, frutas e cereais, fazendo também parte do corpo humano em unhas

(maior quantidade), ossos, coração, músculos, vasos sanguíneos e cartilagens (Diab *et al*, 2017). Este material pode ser classificado de duas maneiras, dependentes da sua organização química e estrutural: cristalina (quartzo, entre outras) e amorfa (Nanopartículas de Sílica - NPSi, Nanopartículas mesoporosas de sílica - NMSi, entre outras).

As sílicas amorfa ou cristalina podem ser obtidas a partir de processos naturais que envolvem vias úmidas ou térmicas. A maior diferença entre elas encontra-se no tamanho das partículas e organização atômica, sendo a forma cristalina aquela que apresenta maior grau de organização molecular.

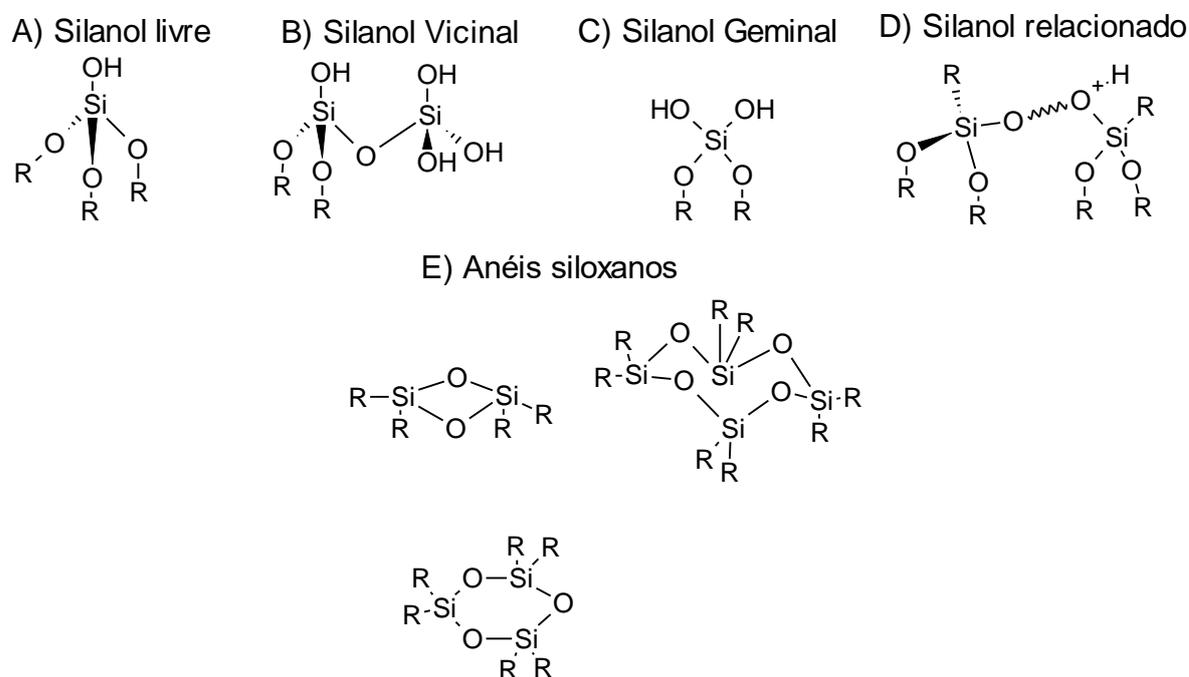
Dentre os tipos de sílica amorfa, os mais conhecidos e amplamente utilizados são as NPSi e NMSi. A arquitetura da NMSi, área de superfície e volume de poros, diferencia estes dois tipos de nanopartículas, onde a rota de produção é similar, diferenciando-se apenas pelo uso de um modelo polimérico na obtenção de NMSi (Lee *et al*, 2011). Dentre as diversas rotas sintéticas de obtenção de sílica amorfa, o processo Sol-Gel, desenvolvido por Stöber e colaboradores, 1968, é o mais utilizado ainda na atualidade na obtenção de NPSi e NMSi (Diab *et al*, 2017). De forma simplificada, um precursor de sílica, o tetraetilortosilicato (TEOS), é um dos mais utilizados, (figura 3) na presença de solvente e catalisador (ácido ou básico) sob constante agitação resulta na obtenção do material referido.

Figura 3 - Estrutura molecular do composto Tetraetilortosilicato (TEOS), adaptadas pela autora utilizando-se o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc (Diab *et al*, 2017).



A formação das nanopartículas se dá a partir de processo de hidrólise, em que inicialmente há a formação de grupos silanóis que se ligam à superfície de substratos e, posteriormente, há a condensação de grupos siloxanos reticulados (Rahman & Padavettan, 2012). A presença dos silanols livres, vicinal, silanóis relacionados e geminais (figura 4), conferem à superfície das nanopartículas possibilidade de funcionalização (Comas-Vives, 2016).

Figura 4 - Estruturas formadoras das NPSi, adaptadas pela autora utilizando-se o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc (Diab et al, 2017; Picolo et al, 2018).



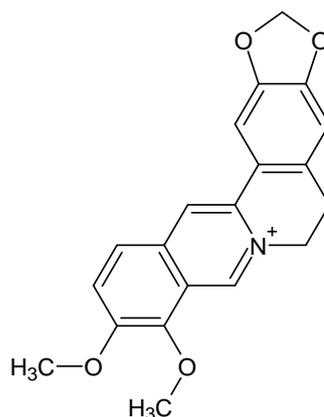
As NPSi têm sido amplamente utilizadas em indústrias, cosméticos e na medicina. De acordo com a Food and Drug Administration (FDA) e a European Food Safety Authority (EFSA) é seguro um consumo por via oral de sílica amorfa em quantidades até 1500 mg por dia, dessa maneira sendo considerada segura (Diab et al, 2017). Por sua biocompatibilidade, segurança, baixa toxicidade e possibilidade de produção em massa com tamanho e forma uniformes, estudos recentes obtiveram aprovação para ensaio clínico de esferas de sílica menores que 10 nm (Kim et al, 2016).

## 2.4. Berberina

A BER (figura 5) é um alcaloide isoquinolínico amplamente utilizada na cultura milenar chinesa e encontrada em diversas plantas como *Berberis aristata*, *Berberis vulgaris*, *Berberis petiolaris*, *Berberis aquifolium*, *Berberis asiatica*, *Berberis thunbergii*, *Coptis teeta*, *Coptis chinensis*, *Hydrastis canadenses*, *Phellodendron Amurense*, *Caulis mahoniae*, entre outras (Mirhadi et al, 2018), mas já possui manufatura por de síntese química (Kumar et al, 2015). Seu uso na medicina oriental consiste como

corante natural e em tratamento de diarreias e infecções intestinais, entretanto de maneira sistêmica esta molécula apresenta um enorme potencial terapêutico como antimicrobiana (Hung *et al*, 2019), protetora neuronal (Lin & Zhang 2018), antitumoral (Kumar *et al*, 2020), antidiabética (Pang *et al*, 2015), entre outros (Kumar *et al*, 2015).

Figura 5 - Estrutura molecular do composto BER, adaptadas pela autora utilizando o software ACDLabs-ChemSketch da Advanced Chemistry Development, Inc® (Barbizan, 2019).



Diversos ensaios clínicos e laboratoriais *in vivo* consideraram a BER como segura (Lan *et al*, 2015). Os principais efeitos desta molécula no metabolismo da glicose e triglicerídeos está relacionada a sua atividade estimulatória da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e da proteína quinase regulada por sinal extracelular (ERK), um dos metabólitos ativos (canadina) reduz de forma significativa a atividade inibitória do cofator NADP<sup>+</sup> (Li *et al*, 2014), além da BER também aumentar a expressão da enzima AKT e do receptor lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Gupta *et al*, 2014). É comprovado que o uso de BER associada a mudanças de hábitos reduz mais os níveis de indicadores do diabetes (incluindo a hemoglobina glicada) do que apenas mudanças de hábito ou placebo (Lan *et al*, 2015).

A neuroproteção conferida à BER faz com que esta seja vista como potencial tratamento da Doença de Parkinson, Doença de Alzheimer e isquemia cerebral (Ahmed *et al*, 2015; Lin & Zhang, 2018). Os mecanismos mais conhecidos que confere essa potencial propriedade protetiva neuronal são a inibição da glicolisação (Gupta *et al*, 2014), atividades antiapoptóticas, antioxidantes e anti-inflamatórias pelas vias da PI3K/AKT/ Bcl-2, sinalização por AMPK, via Nrf2/HO-1, via ERK1/2 e via de sinalização SPHK1/S1P (Lin & Zhang, 2018).

A BER é utilizada como antibiótico contra uma extensa variedade de microrganismos dentre eles bactérias (principalmente Gram-positivas), fungos, protozoários e vírus (Hung *et al*, 2019; Wojtyczka *et al*, 2014).

A absorção por via oral desta molécula é dificultada pelo efluxo da glicoproteína P (Zhang *et al*, 2013). A BER tem sua biodistribuição prejudicada por sofrer metabolismo oxidativo de primeira passagem no fígado, pela ação do Citocromo P 450 (CYP450), além de também sofrer conjugação, processos que elevam sua excreção (Porru *et al*, 2018), sua classificação no sistema de classificação biofarmacêutica é classe III devido a sua alta solubilidade e baixa permeabilidade (Elsheikh *et al*, 2018).

Alguns estudos foram realizados com a utilização de nano sílica e BER com diferentes rotas de produção e objetivos. Nanoconjugados são espécies de nanopartículas ligadas à molécula de interesse terapêutico covalentemente, a utilização deste modelo foi eficaz como antitumoral em câncer de fígado (Halimani *et al*, 2009) assim como modelo de NMSi contendo BER envolta por cápsula biomimética (Yue *et al*, 2018). Estudos fluorimétricos demonstraram aumento da fluorescência da BER quando inserida em NPSi pré-produzidas, de forma que este modelo pode ser usado na detecção em amostras (Liu, 2018).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivos Gerais**

Este trabalho tem como objetivo principal produzir, otimizar e analisar nanopartículas de sílica contendo o composto berberina (NPSi-BER), o qual deve atuar como um sistema teranóstico devido as propriedades farmacológicas e fluorescentes do composto.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Elaborar uma revisão da literatura focada em NPSi e na molécula de interesse terapêutico (BER).
- Analisar os parâmetros usados na otimização da produção das NPSi-BER.
- Analisar características morfológicas e espectroscópicas das NPSi e NPSi-BER: absorção e emissão de luz, tamanho, potencial zeta, índice de polidispersividade e perfil de liberação.

#### 4. JUSTIFICATIVA

No mundo todo é possível perceber esforços atuais com o objetivo de desenvolvimento de novas tecnologias de entrega eficiente de fármacos (Wang *et al*, 2018), com novas descobertas e a dificuldade de modificação eficiente de moléculas, a nanomedicina ganha cada vez mais espaço. Com aprovações pela FDA (Cancino *et al*, 2014) é possível dizer que estamos avançando para um período de entrega seletiva e sustentada de fármacos.

O Uso Racional de Medicamentos consiste em um dos pilares defendidos pela Organização Mundial da Saúde e compreende as corretas indicações, adesão, via de administração e doses, de forma que o paciente certo receba o correto tratamento para a sua condição de saúde daquele dado momento (Esher & Coutinho, 2017). Esse pilar está em constante evidência e duas discussões que podem ser iniciadas ao referenciá-lo como justificativa para a nanomedicina são: a redução de efeitos adversos e colaterais pela entrega seletiva a partir da modificação superficial atrelada à melhora da adesão por proporcionar uma entrega sustentada a partir de uma liberação controlada, melhorando a eficácia e levando a possibilidade de maior espaçamento entre doses.

As NPSi possuem baixa toxicidade e são passíveis de modificação superficial (Ribeiro, 2013), o que as torna alvo de diversos estudos dentro das mais diversas áreas de aplicação. A BER por sua vez, além de possuir diversas evidências sobre seu amplo espectro de ação sistêmico, possui baixa absorção por via oral com a glicoproteína P relacionada ao seu efluxo (Kumar *et al*, 2015).

Portanto, este estudo busca contribuir no desenvolvimento futuro de sistemas de entrega de fármacos oriundos destes materiais e favorecer a evolução de recursos terapêuticos. A produção, otimização e caracterização das NPSi-BER tem como objetivo iniciar as pesquisas de obtenção de dados para possibilidade futura de utilização deste sistema como entrega deste fármaco e conseqüentemente atingir terapêutica eficiente em locais de ação da molécula escolhida.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 Materiais:

Foram utilizados equipamentos e reagentes disponibilizados nos laboratórios da Universidade de Brasília, Campus Faculdade de Ceilândia.

#### 5.1.1. Reagentes

- Berberina (BS MM 320,54 g/mol de Sigma-Aldrich®);
- Metanol P.A. (CH<sub>3</sub>OH, MM: 32,04 g/mol grau de pureza de 99,8%, marca NEON®);
- TEOS P.A. (Tetraetilortosilicato, Si(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>, MM:176,17 de Sigma-Aldrich®);
- Hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH, MM: 35,04 g/mol de Dinâmica®);
- Água foi obtida a partir do Sistema de Ultra Purificação de Água, da marca ELGA®, modelo PURELAB UHQ PS;
- Brometo de potássio (KBr, massa molar de 119,0 g/mol, grau FTIR, pureza acima de 99,0 %, marca Sigma-Aldrich®).

#### 5.1.2. Equipamentos

- Capela de fluxo laminar unidirecional, da marca Veco®, modelos CFLV09 e CFLV12;
- Microtubos de 2,0 mL com tampa articulada, da marca Kasvi®;
- Tubos de polipropileno de 15 mL com tampa, da marca Kasvi®;
- Chapa de agitação e aquecimento, da marca Logen Scientific®, modelo LS61-220;
- Agitador magnético, marca IKA®, modelo Topolino;
- Espectrofotômetro Ultravioleta e visível (UV-vis), marca Hitachi®, modelo U-3900H da Hight-Tecnologies Coporation®;
- Espectrofotômetro UV-vis, marca PerkinElmer®, modelo Lambda 25;
- Micropipetas automáticas com escalas variáveis de 2-20 µL, 20-200 µL e 100-1000 µL, marca Kasvi®, modelo Ecopipette;
- Micropipetas automáticas com escalas variáveis de 2-20 µL, 20-200 µL e 100-1.000 µL, marca Capp®, modelo Ecopipette;

- Microscópio eletrônico de varredura marca FEI® modelo Quanta 250 FEG;
- Centrífuga de bancada para microtubos, marca Eppendorf®, modelo Mini Spin;
- Espectrofotômetro de fluorescência, marca Hitachi High-Technologies Corporation®, modelo F-7000;
- Espectrofotômetro de Infravermelho com transformada de Fourier, marca Shimadzu®, modelo IRPrestige-21;
- Medidor de tamanho e potencial zeta, marca Malvern Instruments Limited®, modelo Zetasizer Nano ZS;

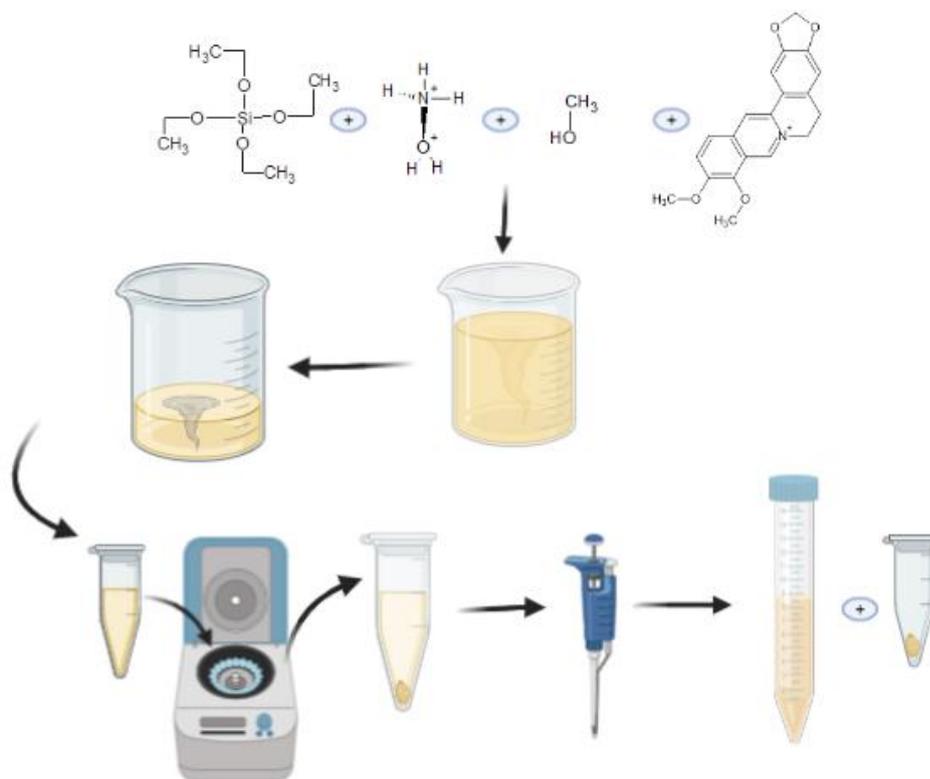
## 5.2. Métodos

### 5.2.1. Produção das nanopartículas

As nanopartículas foram produzidas a partir do método Sol-Gel, desenvolvido e descrito inicialmente por Stöbers e colaboradores, 1968. O método consiste na formação de sol com posterior gelificação. O sol inicial é composto por metanol e BER com adição de TEOS sob constante agitação e posteriormente adição do catalisador. A mudança de aspecto, de transparente a leitoso, indica a formação do gel, ou seja, das NPSi contendo berberina. O final do experimento é caracterizado pela evaporação completa do catalisador, seguida pela lavagem das nanopartículas com água destilada e centrifugação, as nanopartículas são armazenadas em freezer para posteriores análises. É importante salientar que a obtenção das NPSi vazias se dá a partir da retirada da etapa de inserção da solução de BER junto ao solvente inicial.

Estabeleceu-se como objetivos para esta etapa a obtenção de nanopartículas pequenas, com tamanho menor que 100 nm, e que encapsule de maneira satisfatória a molécula de interesse, obtendo uma eficiência de encapsulamento maior que 70%. O método de obtenção das nanopartículas está ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Representação da obtenção das Nanopartículas, obtido a partir do software Biorender feito pela autora.



### 5.2.2. Otimização das nanopartículas

A otimização da produção das NPSi contendo berberina se deu pela análise e o estabelecimento de parâmetros de interesse e escolha de proporções utilizadas dos reagentes com o auxílio do *Software Design Expert* versão 7 e a rotina de planejamento experimental Box-Behnken. Foram estabelecidos valores mínimos e máximos de cada reagente principal na produção das NPSi e o valor de 100  $\mu\text{M}$  como concentração fixa de BER. Os valores estabelecidos foram adicionados ao software e foi obtida a tabela 1, contendo também os valores médios inseridos pelo programa, de experimentos necessários.

Tabela 1 - Parâmetros experimentais obtidos a partir de estabelecimento de valores mínimos e máximos pelo software de planejamento experimental Box-Behnken. (Fonte: dados obtidos no software Design Expert tabela adaptada pelo autor, 2020).

TEOS (mL)	Hidróxido de Amônio (mL)	Metanol (mL)
0,10	2,00	16,00
0,10	5,00	12,00
0,20	5,00	16,00
0,30	5,00	12,00
0,10	5,00	20,00
0,20	5,00	16,00
0,30	2,00	16,00
0,20	2,00	20,00
0,30	8,00	16,00
0,20	8,00	12,00
0,20	8,00	20,00
0,20	2,00	12,00
0,20	5,00	16,00
0,20	5,00	16,00
0,10	8,00	16,00
0,20	5,00	16,00
0,30	5,00	20,00

Os parâmetros experimentais avaliados para escolha das melhores proporções foram Eficiência de Encapsulamento (EE%) e Tamanho das Nanopartículas. A concentração de BER foi obtida por meio de análise espectrofotométrica na região do UV-Vis utilizando-se a lei de Lambert-Beer (Equação 1).

$$A = \epsilon \times b \times C$$

Equação 1

Onde A é a absorvância do pico em um comprimento de onda específico obtida, b é o caminho óptico em cm por onde o feixe de luz passa encontrando a amostra (tamanho do lado da cubeta utilizada) e o  $\epsilon$  refere-se ao coeficiente de absorvância molar em comprimento de onda específico, neste caso 344 nm, onde de acordo com a literatura (Díaz *et al*, 2009)  $\epsilon_{344} = 4570 \text{ cm}^{-1} \times \text{mol}^{-1} \times \text{L}$ . Para estas análises foram utilizadas cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, sendo usado como solvente o metanol.

### 5.2.3. Caracterização das Nanopartículas

As nanopartículas produzidas: NPSi vazias, NPSi-BER e BER em solução foram caracterizadas pelas seguintes técnicas:

#### Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis

Por esta técnica e a avaliação da intensidade dos picos obtidos foi possível avaliar a eficiência de encapsulamento (EE%) das nanopartículas produzidas, esta análise foi feita pela determinação da quantidade de BER presente no sobrenadante que não foi incorporado, em comparação com a concentração inicial de BER (Equação 2).

$$EE\% = [\text{Fármaco Encapsulado}] / [\text{Fármaco adicionado}] \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Esta técnica foi usada também para se determinar o perfil de liberação de BER em função do tempo. Para estas determinações foi usada uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm e a análise foi realizada no comprimento de onda de 344 nm, no módulo de aquisição de absorvância. Os principais parâmetros usados na análise foram a leitura na faixa espectral entre 200 e 800 nm, velocidade de varredura 1200 nm/min, slit 2,0 nm e voltagem da fotomultiplicadora em módulo automático. Os dados obtidos foram transferidos para o *software* GraphPad Prism 8.0.2. e posteriormente foi avaliado o modelo matemático mais adequado ao perfil de liberação obtido.

## Avaliação cinética e mecanismo de liberação da BER incorporada nas NPSi

Os dados obtidos com o estudo de perfil de liberação das formulações preparadas neste estudo foram analisados de acordo com os principais modelos matemáticos aplicados nos estudos de perfis de dissolução matricial, difusão e liberação de fármacos. Os modelos aplicados foram selecionados com base em seus respectivos conceitos teóricos e de acordo com suas aplicabilidades a sistemas de liberação de fármacos baseados em nanopartículas e micropartículas poliméricas. Ao todo, sete modelos cinéticos diferentes foram selecionados e suas respectivas equações estão apresentadas na Tabela 2 (Conceição, 2019).

Tabela 2 - Modelos matemáticos utilizados para avaliação da cinética de liberação de fármacos das NPSi-BER (Fonte: Conceição, 2019).

NÚMERO	NOME DO MODELO	EQUAÇÃO
03	Ordem 0	$Q = K t + Q_0$
04	1ª Ordem	$Q = Q_0 e^{K t}$
05	Korsemeyer-Peppas	$Q = K t^n$
06	Higuchi	$Q = K \sqrt{t}$
07	Weibull	$m = 1 - \exp [-(t)^b/a]$
08	Hixson-Crowell	$Q^{1/3} = K t + Q_0^{1/3}$
09	Baker-Lonsdale	$3/2 [1 - (1 - Q)^{2/3} - Q = K t$

Os parâmetros dos modelos de número 05, 07 e 08 foram calculados a partir de regressão não linear e os parâmetros dos modelos de número 03, 04, 06 e 09 foram obtidos via regressão linear. Q = quantidade de fármaco liberado num determinado período de tempo;  $Q_0$  = valor inicial de Q; t = tempo; K = constante do respectivo modelo; n = expoente de liberação; m = quantidade de fármaco liberado ( $Q = 100\% \times m$ ); a = constante de tempo; b = parâmetro de forma (*shape parameter*).

As adequações de cada uma das equações dos modelos estudados foram avaliadas segundo os valores de  $R^2$  obtidos a partir da regressão linear ou não-linear dos dados de liberação dos compostos. Para as análises linear, os dados foram antes

transformados para obter uma relação linear entre os dados de liberação. O modelo com melhor adequação foi utilizado para elucidar os mecanismos envolvidos no processo de liberação da BER incorporada à matriz polimérica das NPSi.

#### Espectroscopia de emissão de Fluorescência

A técnica de espectroscopia de emissão de fluorescência foi usada com o intuito de avaliar a aplicabilidade das NPSi-BER como sondas para diagnóstico devido a suas propriedades fluorescentes. Assim, as amostras de NPSi-BER foram excitadas com lâmpada de xenônio no comprimento de onda de 344 nm, as principais condições usadas nestes experimentos foram faixa de varredura entre 360 e 600 nm, velocidade de varredura 1200 nm/min, janela de excitação 5,0 nm, janela de emissão 5,0 nm e voltagem da fotomultiplicadora 400 V. As análises foram realizadas utilizando-se uma cubeta de quartzo com caminho ótico de 1,0 cm e com as 4 faces polidas, foram adicionados 2,0 mL de água ultrapura à cubeta juntamente com 20 mg da amostra de interesse NPSi, BER e NPSi-BER. Os dados obtidos a partir do *software* FL Solutions® versão 2.1 foram transferidos para o *software* GraphPad Prism 8.0.2.

#### Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A preparação das amostras foi realizada pela maceração de 1,0 mg dos compostos de interesse juntamente com 50 mg de brometo de potássio, ambos mantidos em dessecador para se evitar a presença de umidade. O macerado foi pressionado a 80 kN pelo período de 5,0 minutos resultando em um disco transparente o qual foi usado para análise. A varredura do espectro ocorreu na região entre 400 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  no modo de transmitância. Os dados obtidos a partir da técnica de FTIR (*Fourier Transformed Infrared*), foram tratados com o *software* IRsolution® versão 1.50 e transferidos para o *software* GraphPad Prism 8.0.2®.

#### Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade (Pdl)

A partir da técnica de espalhamento dinâmico de luz, foi possível obter o diâmetro das nanopartículas produzidas (nm) e o grau de distribuição dessa medida (Pdl, adimensional) variando entre 0,000 e 1,000 de forma que quanto mais próximo

do valor máximo, maior a variação do diâmetro hidrodinâmico entre as partículas em solução. O espalhamento de luz mede o movimento browniano das partículas em suspensão, a análise das intensidades com que o laser é espalhado determinam o movimento browniano, dessa maneira, utilizando a relação de Stokes-Einstein, é possível obter o diâmetro das nanopartículas (Barbizan, 2019). Para esta análise as partículas produzidas são colocadas em uma cubeta transparente com as 4 faces polidas contendo 1,0 mL de água deionizada, a qual é introduzida no equipamento Zetasizer Nano Zs.

### Potencial Zeta

O potencial zeta diz respeito à carga superficial das nanopartículas, obtendo, portanto, dados a respeito da sua interação em meio aquoso, traz informações sobre a sua afinidade em agregar-se ou dispersar-se. É obtida a partir de uma amostra dispersa em água deionizada utilizando o equipamento Zetasizer. A análise foi realizada em cubeta de análise de potencial zeta, utilizando 0,2 mL de solução de 2 mL concentrada com as nanopartículas e 0,8 mL de água deionizada no equipamento Zetasizer Nano Zs.

### Caracterização morfológica

A caracterização morfológica foi realizada pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). A amostra foi colocada sobre uma lamínula de vidro redondo de 1,0 cm de diâmetro e seca em dessecador a temperatura ambiente e pressão reduzida. As lamínulas foram fixadas com fita de carbono dupla face sobre suporte de alumínio (*stub*), estas foram revestidas por uma fina camada de ouro por meio de metalização em atmosfera de argônio. As amostras foram examinadas e fotografadas sob um aumento de 15000 a 100000 vezes operando a 10 kV no modo de detecção tradicional (SE1 Detector).

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de otimização da produção de nanopartículas foi realizado e os resultados obtidos para os pontos de análise foram inseridos no *software* Box-Behken. Ao aplicar os modelos matemáticos com obtenção de ANOVA com  $p < 0,05$  (significância estatística) foi estabelecido que para obtenção das partículas com tamanho menor o modelo matemático cúbico seria o de maior predileção tendo em vista  $p = 0,0151$  e para o parâmetro de EE%, com o objetivo de obtenção de maiores porcentagens foi estabelecido o modelo matemático 2FI obtendo  $p = 0,0313$ .

Ao sinalizar que o objetivo proposto é a obtenção de partículas com menor tamanho e maior eficiência de encapsulamento, o *software* realizou a relação entre os modelos matemáticos definidos e apresentou a tabela 3 contendo parâmetros otimizados:

Tabela 3 - Proporções otimizadas para a produção de NPSi contendo BER, dados obtidos a partir do *software* de planejamento experimental Box-Behken. Dados extraídos do *software Design Expert* e adaptados pelo autor, 2020.

Desejabilidade	Volume (mL)			Parâmetros	
	TEOS	NH <sub>4</sub> OH	Metanol	Diâmetro	EE%
0,989	0,15	2,00	13,56	42,68	99,00
0,989	0,15	2,00	13,56	42,68	99,00
0,989	0,15	2,00	13,56	42,70	99,00
0,989	0,15	2,00	13,56	42,77	99,00
0,988	0,15	2,03	13,53	43,02	99,00
0,986	0,15	2,14	13,42	44,17	99,00
0,980	0,12	2,00	13,56	47,05	99,00
0,978	0,15	2,47	13,01	48,20	99,00
0,977	0,11	2,00	13,56	48,80	99,00
0,972	0,11	2,00	13,56	51,30	99,00
0,968	0,10	2,00	13,56	53,05	99,00
0,967	0,10	2,00	13,56	53,40	99,00

0,875	0,10	5,83	20,00	88,59	95,21
0,875	0,10	6,09	20,00	95,67	98,63
0,874	0,10	5,78	20,00	87,07	94,45
0,873	0,10	5,90	19,82	90,03	95,66
0,871	0,10	5,51	20,00	79,84	90,60
0,865	0,10	5,36	18,96	73,75	86,96
0,830	0,21	8,00	20,00	98,76	90,46
0,830	0,20	8,00	20,00	104,43	93,13
0,830	0,21	7,99	20,00	96,23	89,23
0,826	0,18	8,00	19,96	117,155	99,00

É importante ressaltar o uso da função Desejabilidade (*Desirability*) que diz respeito a quão próximo dos parâmetros desejáveis aquela função te leva, de forma que quanto mais próximo de 1,000 mais próximo de atingir nanopartículas de menor tamanho com maior EE%.

A fim de obter resultados de características espectroscópicas e morfológicas de qualidade foram produzidas nanopartículas com os parâmetros estabelecidos mais próximos ao percebido no potencial de *Desirability* de 0,875, que foram estabelecidos como preferenciais para o modelo linear, que não obteve relevância estatística mas por estar tão próximo das predileções para o modelo relevante, foi escolhido. Utilizando como concentração 100  $\mu\text{mol/L}$  do princípio ativo (cloridrato de BER), 100  $\mu\text{L}$  do precursor (TEOS), 6,1 mL de catalisador (hidróxido de amônio) e 20,0 mL do solvente (metanol), conforme destacada na tabela 3. Com objetivo de comparação, foram obtidas também nanopartículas vazias seguindo as mesmas proporções estabelecidas, e com o mesmo objetivo houve a utilização de BER em solução aquosa.

As NPSi-BER obtidas sob as condições otimizadas foram analisadas em triplicata quanto ao tamanho, apresentando diâmetro hidrodinâmico médio de  $92,31 \pm 1,42$  nm e índice de polidispersividade  $0,060 \pm 0,011$  enquanto as NPSi vazias apresentaram resultados em triplicata de  $93,39 \pm 1,40$  nm com índice de polidispersividade de  $0,085 \pm 0,010$ . Dessa maneira é possível inferir desses resultados que a presença da BER não interferiu no tamanho das nanopartículas, tendo em vista que a variação em cada produção e entre elas foi baixa, estando os

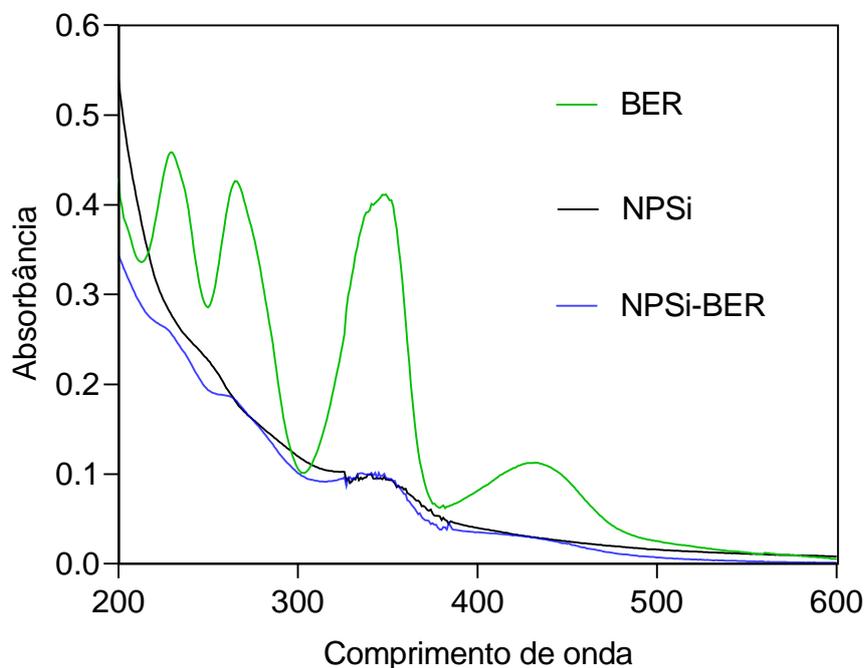
resultados médios obtidos dentro da faixa estabelecida. O índice de polidispersividade indica também que a variação de tamanho é satisfatória, tendo em vista sua distância do valor máximo.

O potencial Zeta das NPSi vazias foi de -38,3 mV e das NPSi-BER foi de -45,2 mV de maneira que ambos ficaram em torno de -40,0 mV demonstrando que ambas possuem como característica a baixa agregação em meios polares, indicando, portanto, estabilidade. A carga negativa apresentada é devido à natureza TEOS das NPSi (Vazquez, et al 2017). As nanopartículas de sílica na faixa de pH normal (entre 2 e 12) são consideradas não reativas e a razão das cargas superficiais são fruto da protonação - desprotonação dos grupos siloxanos e silanóis com formação de  $\text{SiOH}^+$  e  $\text{SiO}^-$  (Leroy et al, 2013). É importante salientar que caso o objetivo seja a obtenção de sistemas de entrega de fármacos com passibilidade de administração intravenosa é preferível que as cargas superficiais sejam negativas, pois estas possuem tempo de meia-vida maior sob as condições biológicas (BLANCO et al, 2015).

A EE% obtida a partir da análise UV-Vis do sobrenadante indicou que apenas 20,76% do composto de interesse terapêutico não foi encapsulado, resultando em uma eficiência de encapsulamento de 79,24%. Com esse resultado podemos estimar que a concentração molar de BER encapsulada, corresponde a  $1,04 \times 10^{-3}$  mol/L em 2mL.

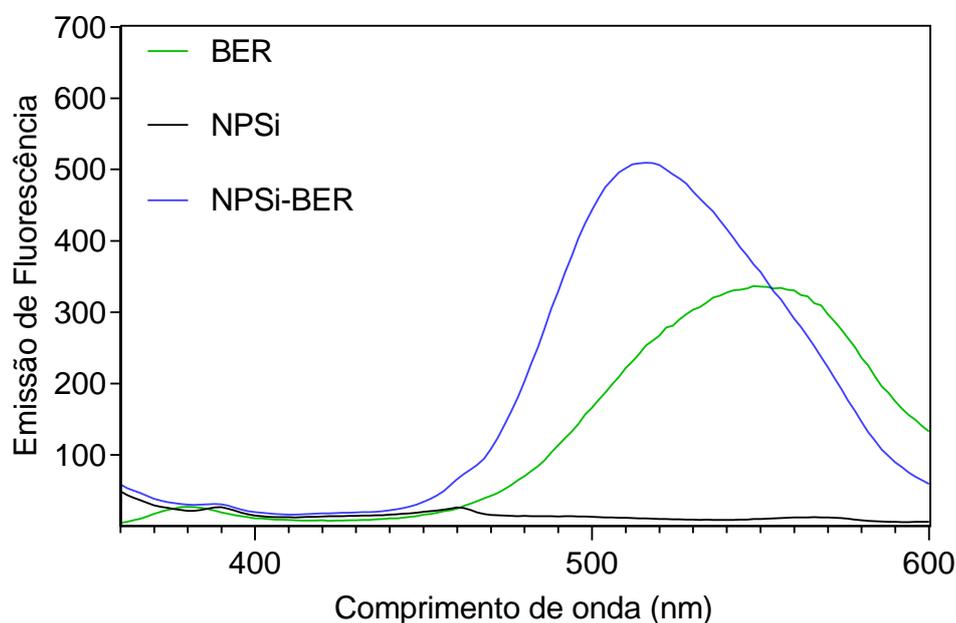
O espectro obtido pela análise na região UV-Vis apresenta um leve pico próximo na região de maior absorção da BER no comprimento de onda de 344 nm. A concentração da solução de BER foi obtida pela equação de Lambert-Beer, utilizando como valor de absorvidade molar em água  $4209 \text{ cm}^{-1} \times \text{mol}^{-1} \times \text{L}$  (DIAZ, et al 2009). A concentração utilizada na solução de BER foi de  $97,71 \mu\text{mol/L}$ . A concentração das nanopartículas foi obtida com base na diferença entre a concentração inicial da solução e a concentração obtida no sobrenadante, pois a equação de Lambert-Beer não é adequada para espécies distintas associadas. Portanto, pode-se inferir que com o encapsulamento nas NPSi houve redução da absorção de luz pela BER, de forma a identificar leves bandas em comprimentos de onda característicos da BER na Figura 7. A redução na intensidade de absorção também ocorreu em virtude do efeito de espalhamento de luz.

Figura 7 - Gráfico contendo o espectro de absorção na região do UV-Vis da NPSi, NPSi-BER e BER em solução. Obtido através do *Software UV Solutions® 3.0* e ajustado no *software GraphPad Prism® 8.0.2*.



O espectro relativo à emissão de fluorescência foi obtido após excitação no comprimento de onda 344 nm, para esta medida foi utilizada a solução mãe de BER, da qual foi retirado 0,2 mL para as outras análises, com concentração de  $0,98 \times 10^{-3}$  mol/L. Dessa maneira foi possível demonstrar (Figura 8) o aumento da emissão de fluorescência quando a BER se encontra nano encapsulada conforme era esperado, uma vez que a técnica de emissão de fluorescência não possui o fenômeno de espalhamento de luz associado (Liu, 2018).

Figura 8 - Gráfico contendo o espectro de emissão de Fluorescência da NPSi, NPSi contendo BER e BER. Obtido a partir do FL Solutions® versão 2.1 e ajustado no software GraphPad Prism® 8.0.2.



O perfil de liberação foi obtido a partir de leituras sucessivas da absorção de luz pelas NPSi-BER, dissolvidas em 2,0 mL de água, no comprimento de onda de 344 nm. As medidas foram realizadas durante 50 horas, com intervalos pré-determinados. Neste experimento as amostras foram mantidas ao abrigo da luz e do calor, mantida em cubeta de quartzo tampada e vedada. Os resultados obtidos foram normalizados e foram apresentados na forma de porcentagem de liberação. Os resultados tratados foram analisados utilizando modelos matemáticos descritos na literatura para descrever a liberação acumulada ao longo do tempo (Costa, 2019).

O modelo matemático que melhor se enquadrou levando a um ajuste próximo ao observado em laboratório foi o modelo matemático de Weibull que é caracterizado pela equação 3.

$$m = 1 - e^{-(t/T_d)^{\beta/\alpha}} \quad \text{Equação 3}$$

Em que  $m$  é a quantidade liberada no tempo  $t$ ,  $T_d$  representa o tempo para que 63,2% do fármaco seja liberado,  $\beta$  representa o parâmetro forma e  $\alpha$  representa o parâmetro escala. Este modelo matemático não descreve parâmetros cinéticos, mas

pode ser usado na descrição ou análise de dissolução (Fortunato *et al*, 2007). A equação 4 foi obtida pela análise do *software* KinetDS3.

$$m = 100 \times (1 - e^{-(t \times 0,8483)/631,3453}) \quad \text{Equação 4}$$

O  $R^2$  obtido para a curva obtida foi de 0,6620 e a curva obtida teve todos os seus pontos dentro dos valores de Y propostos (entre 0 e 100%), se apresentando de maneira semelhante aos resultados experimentais obtidos e formato de parábola conforme apresentado na figura 9.

O modelo matemático proposto por Korsmeyer-Peppas não se ajusta a curva, portanto não foi inserido na análise gráfica. A equação que caracteriza esta análise é a equação 5.

$$M_t / M_\infty = K_{kp} t^n \quad \text{Equação 5}$$

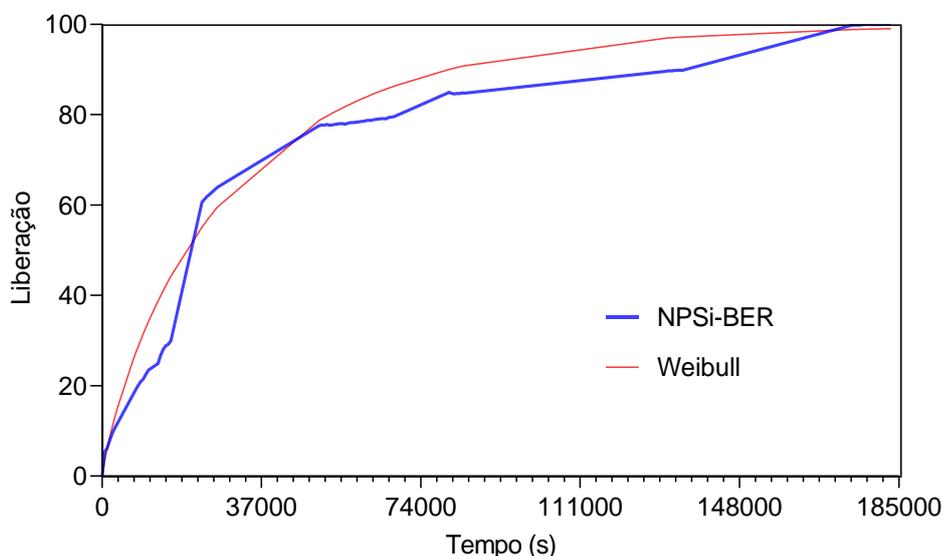
Em que  $M_t$  é a Liberação em um tempo  $t$ ,  $M_\infty$  é a liberação em um tempo infinito e  $K_{kp}$  é a constante de liberação de Korsmeyer-Peppas, que incorpora características moleculares (estruturais e geométricas) (Lopes *et al*, 2005), e sendo  $n$  o expoente de liberação. Este modelo considera características geométricas e estruturais do mecanismo de liberação (Costa, 2019). Esta equação aplicada a análise obtida foi expressa como Equação 6.

$$\text{Liberação (Y)} = 0,01430 \times t^{0,7747} \quad \text{Equação 6}$$

Com a obtenção de  $n = 0,7747$  há a indicação de cinética de transporte anômalo, com a combinação do transporte de Caso II e mecanismos de difusão Fickiana (Costa, 2019). Este modelo aplicado aos dados obtidos em análise laboratorial leva em conta o relaxamento do gel como processo determinante para a liberação do fármaco e também sua difusão (Lopes *et al*, 2005).

A partir destas análises e da simplicidade do teste realizado pode-se inferir que o armazenamento das NPs em água a temperatura ambiente ocasiona sua liberação completa em 50h, não sendo, portanto, estáveis sob estas condições.

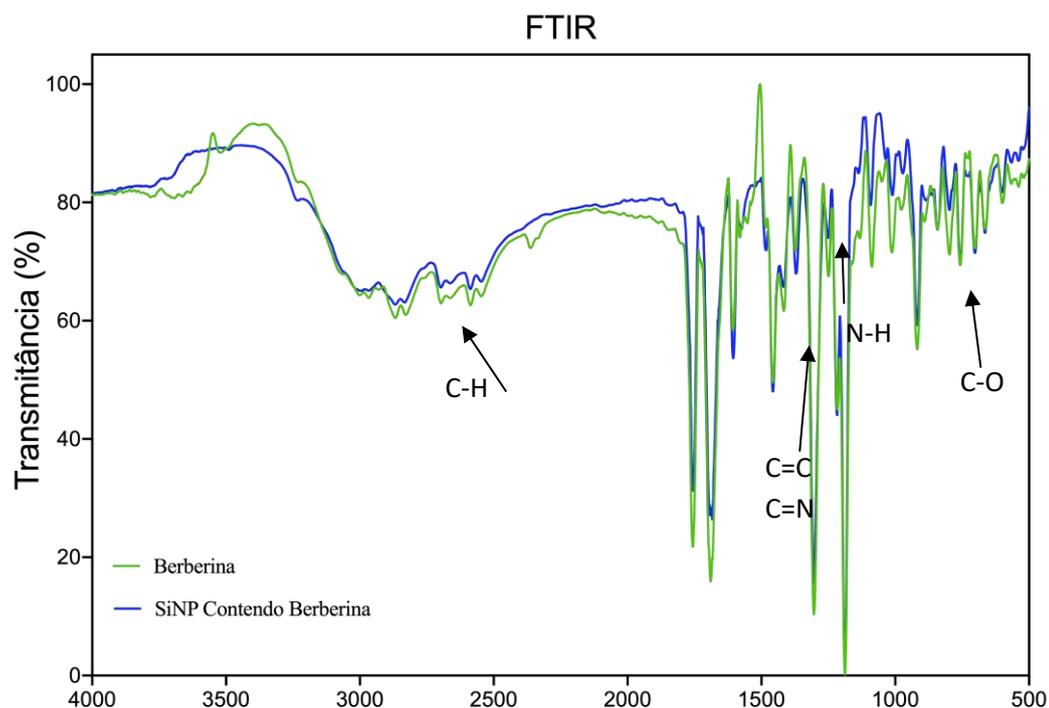
Figura 9 - Análise do perfil de liberação, das NPSi-BER contendo os resultados previstos pelos modelos de Weibull. Obtido pelo software KinetDS3® e ajustado no software GraphPad Prism® 8.0.2. Condições: Temperatura ambiente (15° C a 35° C) em água deionizada



A análise do espectro infravermelho foi realizada com o objetivo de caracterização das NPSi-BER e demonstração da presença do composto de interesse a partir da comparação de espectros. É possível verificar a presença de bandas características indicando os seguintes grupos funcionais (Barbizan, 2019; Pinheiro, 2015): 2848  $\nu$  (C-H); 1683  $\nu$  (C=C, C=N); 1065  $\nu$  (C-O).

Os espectros obtidos de BER e de NPSi contendo BER tiveram de forma bem característica uma certa sobreposição, como é possível verificar na Figura 10.

Figura 10 - Espectro FTIR da BER e NPSi-BER secas em KBr com aproximadamente 40 mg sendo aproximadamente 2% de amostra. Gráfico obtido a partir do software IRsolution® versão 1.50 e manipulado posteriormente no software GraphPad Prism® versão 8.0.2.



A análise morfológica foi realizada apenas com as nanopartículas contendo BER sendo obtidas imagens sob uma magnificação entre 15000 (Figura 11) e 100000 (Figura 12) vezes, esta análise mostrou nanopartículas esféricas com uma distribuição de tamanho uniforme e com dimensões pequenas, como previsto pela análise de espalhamento dinâmico de luz.

Figura 11 - Microscopia Eletrônica de Varredura de NPSi-BER visto sob um aumento de 15000 vezes, operando a 11,3 kV no modo de detecção de retro espalhamento de elétrons (BSED Detector).

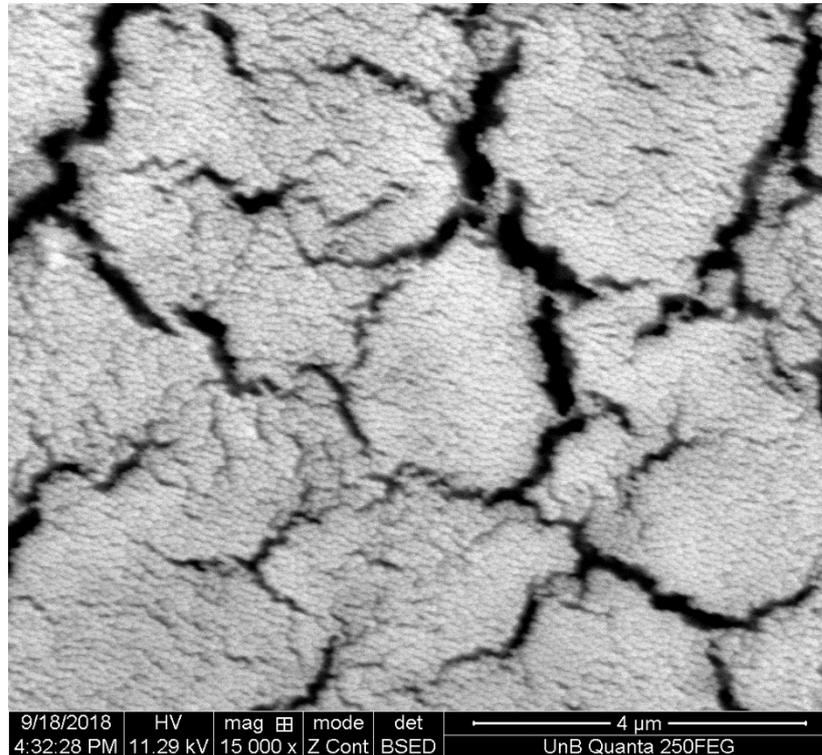
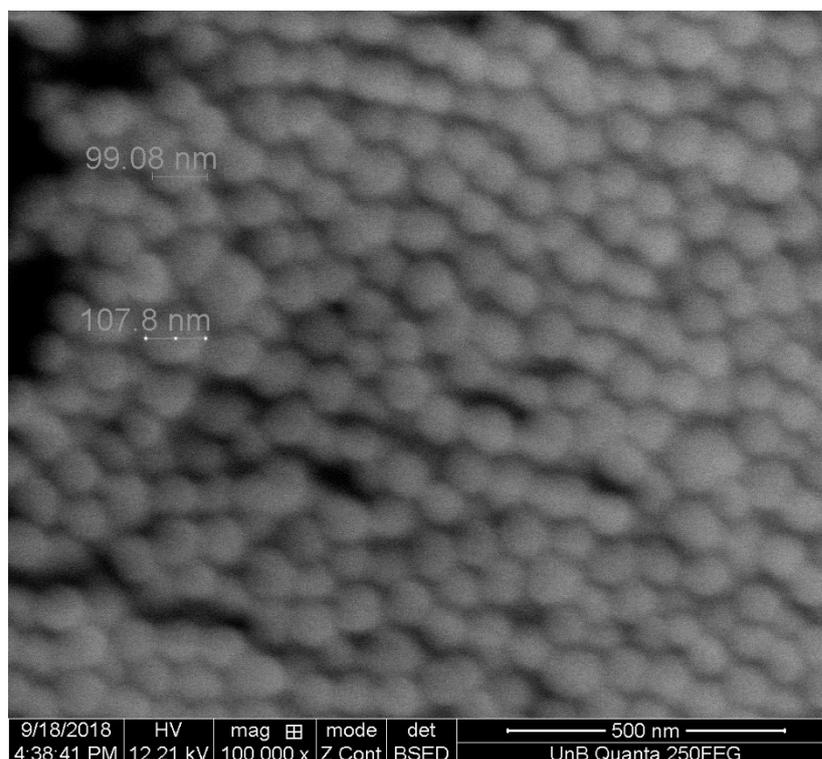


Figura 12 - Microscopia Eletrônica de Varredura de NPSi-BER visto sob um aumento de 100000 vezes, operando a 12,2 kV no modo de detecção de retro espalhamento de elétrons (BSED Detector).



## 7. CONCLUSÃO

A otimização da produção das NPs foi analisada a partir do software de planejamento experimental box-Behnken e, a partir da escolha de equações com relevância estatística, foi possível obter as melhores proporções a serem utilizadas para garantir nanopartículas pequenas e com alta eficiência de encapsulamento.

A produção e análise das NPs com parâmetros otimizados teve como resultado a obtenção de nanopartículas menores que o indicado (2,38% menores), com dispersividade baixa de tamanho ( $<0,1$ ), com eficiência de encapsulamento 19,39% menor que o esperado, porém a obtenção pode ser considerada satisfatória tendo em vista que as nanopartículas obtidas tiveram tamanho  $<100$  nm e  $EE\% > 70\%$ .

A caracterização espectroscópica das nanopartículas demonstrou a presença da BER, de forma que bandas características puderam ser visualizadas nos comprimentos de onda de absorção de luz ultravioleta e visível e também no espectro do FTIR. A emissão de fluorescência foi aumentada de forma significativa conforme previsto em literatura podendo, portanto, afirmar a possibilidade de utilização de NPSi como possível método de detecção de BER a partir desta técnica.

O perfil de liberação demonstrou baixa estabilidade do encapsulamento da BER pelas NPSi quando mantidas em água a temperatura ambiente, de forma que após 50 horas (2 dias e 2 horas) a liberação máxima é atingida. A partir da análise deste parâmetro pela equação de Weibull é possível obter o perfil de dissolução deste sistema. Portanto, as NPSi-BER devem ser armazenadas secas ou congeladas contendo pequenas quantidades de água.

As representações obtidas a partir de microscopia eletrônica de varredura demonstraram nanopartículas esféricas, como descrito em literatura, pequenas e pode-se verificar seu tamanho pouco disperso. A partir da análise do seu potencial zeta é possível inferir que em meios polares são estáveis, mantendo-se distantes, podendo ser compatíveis com a via intravenosa como aplicabilidade.

A BER, como demonstrado pela de pesquisa bibliográfica, possui aplicabilidades diversas dependentes da área onde se encontra. O encapsulamento desta molécula em nanopartículas funcionalizadas pode proporcionar uma entrega seletiva e sustentada, com possibilidade de resultados satisfatórios em doenças como diabetes, infecções, câncer ou mesmo em casos vasopressores com objetivo de vasodilatação.

## 8. REFERÊNCIAS

AHMED, T.; GILANI, A. U.; ABDOLLAHI, M.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. F.; NABAVI, S. M. Berberine and neurodegeneration: A review of literature. *Pharmacological Reports*. V. 67, n. 5, p. 970-979. 2015.

BALL, D. W. *Field Guide to Spectroscopy*. SPIE Press. Bellingham, WA. 2006.

BARBIZAN, O. A. Produção e avaliação de micropartículas de alginato contendo bacitracina de zinco, berberina e nitroprussiato de sódio recobertas por quitosana para tratamento de bacterioses extraídas de peixes. Tese de Doutorado em Nanociência e Nanobiotecnologia. Universidade de Brasília. 2019.

BLANCO, E.; SHEN, H.; FERRARI, M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nature Biotechnology*. V. 33(9), p. 941-951. 2015.

CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTI, V. Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. *Química Nova*. V. 37(3). São Paulo. 2014.

CHENG, F.; WANG, Y.; LI, J.; SU, C.; WU, F.; XIA, W. H.; YANG, Z.; YU, B. B.; QIU, Y. X.; TAO, J. Berberine improves endothelial function by reducing endothelial microparticles-mediated oxidative stress in humans. *International Journal of Cardiology*. V. 167, p. 936-942. 2013.

CHU, M.; ZHANG, M. B.; LIU, Y. C.; KANG, J. R.; CHU, Z. Y.; YIN, K. L.; DING, L. Y.; DING, R.; XIAO, R. X.; YIN, Y. N.; LIU, X. Y.; WANG, Y. D. Role of Berberine in the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Scientific Reports*. 2016.

CHUNG, M. C.; SILVA, A. T. De A.; CASTRO, L. F.; GÜIDO, r. V. C.; NASSUTE, J. C.; FERREIRA, E. I. Latenciação e formas avançadas de transporte de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. V. 41(2). 2015.

COELHO, J. F.; FERREIRA, P. C.; ALVES, P.; CORDEIRO, R.; FONSECA, A. C.; GÓIS, J. R.; GIL, M. H. Drug Delivery Systems: Advanced Technologies Potentially Applicable in Personalized Treatments. *EPMA J*. V. 1(1), p. 164-209. 2010.

COMAS-VIVES, A. Amorphous SiO<sub>2</sub> surface models: energetics of the dihydroxylation process, strain, ab initio atomistic thermodynamics and IR spectroscopic signatures. *Phys. Chem. Chem. Phys.* V. 18, p. 7475-7482. 2016.

CONCEIÇÃO, J. B. F. da. Riboflavina associada a nanopartículas de ácido poli-lático carregadas com tamoxifeno e melatonina: Síntese, caracterização físico-química, morfológica e análise citotóxica in vitro. Dissertação de Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia. 2019.

COSTA, A. O. da. Nanopartículas de PLGA contendo clorambucil e funcionalizadas com O-estearoil manose: síntese, caracterização e avaliação da ação citotóxica em células tumorais MCF-7. Tese de Doutorado em Nanociência e Nanobiotecnologia. Universidade de Brasília. 2019.

CROMMELIN, D. J. A.; FLORENCE, A. T. Towards more effective advanced drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics.* V. 454, p. 496-511. 2013.

DIAB, R.; CANILHO, N.; PAVEL, I. A.; HAFFNER, F. B.; GIRARDON, M.; PASC, A. Silica-based systems for oral delivery of drugs, macromolecules and cells. *Advances in Colloid and Interface Science.* V. 249, p. 346-362. 2017.

DÍAZ, M. S.; FREILE, M. L.; GUTIÉRREZ, M. I. Solvent effect on the UV/Vis absorption and fluorescence properties of berberine. *Photochemical & Photobiological Sciences.* V. 8, p. 970-974. 2009.

ELSHEIKH, M. A.; ELNAGGAR, Y. S. R.; HAMDY, D. A.; ABDALLAH, O. Y. Novel cremochylomicrons for improved oral bioavailability of the antineoplastic phytochemistry berberine chloride: Optimization and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics.* V. 535, p. 316-324. 2018.

ESTHER, A.; COUTINHO, T. Uso racional de medicamentos, farmacuticalização e usos do metilfenidato. *Ciência & Saúde Coletiva.* V. 22(8), p. 2571-2580. 2017.

FORTUNATO, K. A.; DOILE, M. M.; SCHMÜCKER, I. C.; SCHUCKO, K. K.; SILVA, M. A. S.; RODRIGUES, P. O. Influência da Complexação com  $\beta$ -ciclodextrina sobre a Liberação do Acetato de Dexametasona a partir de Matrizes Hidrofílicas de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e Polioxetileno (PEO). *Latin American Journal of Pharmacy.* V. 26(4), p. 513-521. 2007.

FRANCIA, V. Endocytosis of Nanomedicines: Dissecting the Pathways of Uptake of Nano-sized Drug Carriers by Cells. (PhD). University of Groningen. Milão. 2018.

GOMES, A. J.; LUNARDI, C. N.; ROCHA, F. S.; PATIENCE, G. S. Experimental Methods in Chemical Engineering: Fluorescence Emission Spectroscopy. *Can. J. Chem. Eng.* 97:2168–2175. 2019.

GOMES, A. J.; BARBIZAN, O. A.; LESSA, C. C.; CAMPOS, T. A.; MULLER, H. S.; MARTINS, V. P.; LUNARDI, C. N. Multidrug Core–Shell Bead: A System for Bacterial Infection Treatment in Fish. *Journal of Polymers and the Environment.* 27:2395–2407. 2019.

GUPTA, S.; SINGH, N.; JAGGI, A. S. Alkaloids as Aldose Reductase Inhibitors, with Special Reference to Berberine. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* V. 20, n. 3, p. 195-205. 2014.

HALIMANI, M.; CHANDRAN, S. P.; KASHYAP, S.; JADHAV, V. M.; PRASAD, B. L. V.; HOTHAN, S.; MAITI, S. Dendritic Effect of Ligand-Coated Nanoparticles: Enhanced Apoptotic Activity of Silica – Berberine Nanoconjugates. *Langmuir.* V. 25, p. 2339-2347. 2009.

HUNG, T. C.; JASSEY, A.; LIU, C. H.; LIN, C. J.; LIN, C. C.; WONG, S. H.; WANG, J. Y.; YEN, M. H.; LIN, L. T. Berberine inhibits hepatitis C virus entry by targeting the viral E2 glycoprotein. *Phytomedicine.* V. 53, p. 62-69. 2019.

IIZUKA, N.; MIYAMOTO, K.; OKITA, K.; TANGOKU, A.; HAYASHI, H.; YOSINO, S.; OKA, M. Inhibitory effect of Coptidis Rhizoma and Berberine on the proliferation of human esophageal cancer cell lines. *Cancer letters.* V. 148(1), p. 19-25. 2000.

JEELANI, P. G.; MULAY, P.; VENKAT, R.; RAMALINGAM, C. Multifaceted Application of Silica Nanoparticles. A Review. Springer Nature. 2019.

KIM, G. G.; LEE, J. Y. CHOI, P. S.; KIM, S. W.; PARK, J. H. Tumor Targeting Effect of Triphenylphosphonium Cations and Folic Acid Coated with Zr-89-Labeled Silica Nanoparticles. *Molecules.* V. 25(12). 2020.

KIM, S. E.; ZHANG, L.; MA, K.; RIEGMAN, M.; CHEN, F.; INGOLD, I.; et al. Ultrasmall nanoparticles induce ferroptosis in nutrient-deprived cancer cells and suppress tumour growth. *Nat. Nanotechnol.* 11, 977–985. 2016.

KUMAR, R.; MANSI, A.; SHARMA, A.; PADWAD, Y.; SHARMA, R. Berberine induces dose-dependent quiescence and apoptosis in A549 cancer cells by modulating cell cyclins and inflammation independent of mTOR pathway. *Life Sciences.* V. 244. 2020.

KUMAR, A.; EKAVALI; CHOPRA, K.; MUKHERJEE, M.; POTTABATHINI, R.; DHULL, D. K. Current Knowledge and Pharmacological profile of berberine: An update. *European Journal of Pharmacology.* V. 761(15), p. 288-297. 2015.

LAN, J.; ZHAO, Y.; DONG, F.; YAN, Z.; ZHENG, W.; FAN, J.; SUN, G. Meta-Analysis of the effect and safety of berberine in the treatment of type 2 diabetes mellitus, hyperlipemia and hypertension. *Journal of Ethnopharmacology.* V. 161, p. 69-81. 2015.

LEE, S.; YUN, H. S.; KIM, S. H. The comparative effects of mesoporous silica nanoparticles and colloidal silica on inflammation and apoptosis. *Biomaterials.* V. 32, p. 9434-9443. 2011.

LEROY, P.; DEVAU, N.; REVIL, A.; BIZI, M. Influence of surface conductivity on the apparent zeta potential of amorphous silica nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science.* V. 410, p. 81-93. 2013.

LI, J. W.; YUAN, K.; SHANG, S. C.; GUO, Y. A safer hypoglycemic agent for type 2 diabetes-Berberine organic acid salt. *Journal of Functional Foods.* V. 38, p. 399-408. 2017.

LI, Z.; JIANG, J. D.; KONG, W. J. Berberine Up-Regulates Hepatic Low-Density Lipoprotein Receptor through Ras-Independent but AMP-Activated Protein Kinase-Dependent Raf-1 Activation. *Biol. Pharm. Bull.* V. 37, n. 11, p. 1766-1775. 2014.

LIN, X.; ZHANG, N. Berberine: Pathways to protect neurons. *Phytotherapy Research.* P. 1-10. 2018.

LIU, Q.; XIE, Z.; LIU, T.; FAN, J. Determination of berberine hydrochloride using a fluorimetric method with silica nanoparticles as probe. *RSC advances.* V. 8, p. 6075-6082. 2018.

LOHAN, S.; RAZA, K.; MEHTA, S. K.; BHATTI, G. K.; SAINI, S.; SINGH, B. Anti-Alzheimer's potential of berberine using surface decorated multi-walled carbon nanotubes: A preclinical evidence. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas Farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. V. 41(2). 2005.

MA, Y. G.; LIANG, L.; ZHANG, Y. B.; WANG, B. F.; BAI, Y. G.; DAI, Z. J.; XIE, M. J.; WANG, Z. W. Berberine reduced blood pressure and improved vasodilation in diabetic rats. *Journal of Molecular Endocrinology*. V. 59, p. 191-204. 2017.

MAZIERO, J. Da S.; ROGERO, S. O.; Alemany, A. Estudo ecotoxicológico da nanopartícula de prata em *Daphnia similis*. *J Health Sci Inst*. V. 34(3), p. 133-139. 2016.

MEERAN, S. M.; KATIYAR, S. K. Berberine-induced apoptosis in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species generation. *Toxicology and applied pharmacology*. V. 229(1), p. 33-43. 2008.

MELO, C. P. De; PIMENTA, M. *Nanociências e Nanotecnologia. Parcerias Estratégicas*. N.18. 2004.

MIR, M.; AHMED, N.; UR REHMAN, A. Recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 159, p. 217-231, 2017.

MIRHADI, E.; REZAEI, M.; NIKOUEI, B. M. Nano strategies for berberine delivery, a natural alkaloid of *Berberis*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. V. 104, p. 465-473. 2018.

MOHAMMADI, P.; ABBASINIA, M.; ASSARI, M. J.; OLIAEI, M. The toxicology of silica nanoparticles: A review. *Toxicological & Environmental Chemistry*. V. 100(3), p. 285-316. 2018.

MORAIS, F. P. Desenvolvimento de Sistemas de Entrega de Fármacos Inovadores utilizando Materiais Poliméricos Porosos contendo Nanocelulose. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Química Medicinal. Covilhã. 2017.

MORE, N. V.; KHARAT, K. R.; KHARAT, A. S. Berberine from *Argemone mexicana L* exhibits a broadspectrum antibacterial activity. *Acta Biochimica Polonica*. V. 64(4), p. 653-660. 2017.

PANG, B.; ZHAO, L. H.; ZHOU, T. Y.; WANG, H.; GU, C. J.; TONG, L. X. Review Article. Application of Berberine on Treating Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Endocrinology*. 2015.

PENG, P. L.; HSIEH, Y. S.; WANG, C. J.; HSU, J. L.; CHOU, F. P. Inhibitory effect of berberine on the invasion of human lung cancer cells via decreased productions of urokinase-plasminogen activator and matrix metalloproteinase-2. *Toxicology and applied pharmacology*. V. 214(1), p. 8-15. 2006.

PICOLO, N.; MORAES, V.; LEBRÃO, G.; LEBRÃO, S. Funcionalização de Nanosílica para modificar propriedades de molhabilidade de materiais. *COBEQ 2018*. P. 1044-1048. 2018.

PINHEIRO, W. M. Elaboração de sistema sinérgico visando aplicações em nanobiotecnologia, baseado em microesferas de polímeros naturais contendo berberina e nanopartículas de ouro associadas a doxorubicina. Dissertação de Mestrado em Nanociências e Nanobiotecnologia. Universidade de Brasília. 2015.

PORRU, E.; FRANCO, P.; CALABRIA, D.; SPINOZZI, S.; ROBERTI, M.; CALICETI, C.; RODA, A. Combined analytical approaches to define biodistribution and biological activity of semi-synthetic berberrubine, the active metabolite of natural berberine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. V. 410, p. 3533-3545. 2018.

PRENINGER, V. Capítulo 1 Quimiotaxonomia da Papaveraceae e Fumaraceae. *Os Alcalóides: Química e Farmacologia*. V. 29, p. 1-98, 1986.

QIU, G.; SONG, Y. H.; ZENG, P.; DUAN, L.; XIAO, S. Characterization of bacterial communities in hybrid upflow anaerobic sludge blanket (UASB) – membrane bioreactor (MBR) process for berberine antibiotic wastewater treatment. *Bioresource Technology*. V. 142, p. 52-62. 2013.

RAHMAN, I. A.; PADAVETTAN, V. Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size-Dependent Properties, Surface Modification, and Applications in Silica-Polymer Nanocomposites—A Review. *Journal of Nanomaterials*. Malásia, p. 1-15. 2012.

RAMA, M. J. R.; WALTERS, J. D.; ORTE, A.; HALL, E. A. H. Fluorescent nanoparticles for intracellular sensing: A review. *Analytica Chimica Acta*. V. 751, p. 1-23. 2012.

RIBEIRO, C. S. de S. Síntese e Caracterização de Silica Oca obtidas a partir de Esferas de Poliestireno. Universidade Federal do ABC. Santo André, 2013.

ROCHA, K. L. V. R. Terapia Fotodinâmica em Camundongos BALB/C Jovens e Idosos Portadores de Tumores de Mama Sensibilizados com Selol. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. 2018.

ROCHA, F. S.; GOMES, A. J.; LUNARDI, C. N.; KALIAGUINE, S.; PATIENCE, G. S. Experimental Methods in Chemical Engineering: Ultraviolet Visible Spectroscopy UV-Vis. *Can. J. Chem. Eng.* V. 96, p. 2512–2517. 2018.

SCHULZ, P. A. Há mais uma história lá embaixo – Um convite para rever uma palestra. *Revista Brasileira de Ensino de Física*. V. 40(4). 2018.

SILVA, J. A.; APOLINÁRIO, A. C.; SOUZA, M. S. R.; DAMASCENO, B. P. G. L.; MEDEIROS, A. C. D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada*. V. 31(3), p. 125-131. 2010.

SOUDI, S. A.; NOUNU, M. I.; SHEWEITA, S. A.; GHAREEB, D. A.; YOUNIS, L. K.; KHORDAGUI, L. K. E. Protective effect of surface-modified berberine nanoparticles against LPS-induced neurodegenerative changes: a preclinical study. *Drug Delivery and Translational Research*. Vol. 9, p. 906-919. 2019.

STOBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range. *Journal of Colloid and interface science*. V. 26:62-69. 1968.

TANG, L. Q.; LIU, S.; SHENG, L.; ZHANG, S. T.; ZHU, L. N.; WANG, F. L. Berberine regulates the expression of E-prostanoid receptors in diabetic rats with nephropathy. *Molecular Biology Reports*. V. 41(5), p. 3339-3347. 2014.

TIWARI, G.; TIWARI, R.; SRIWASTAWA, B.; BHATI, L.; PANDEY, S.; PANDEY, P.; BANNERJEE, S. K. Drug Delivery systems: An update review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. V. 2(1). 2012.

VAZQUEZ, N. I.; GONZALEZ, Z.; BEGOÑA, F.; CASTRO, Y. Synthesis of mesoporous silica nanoparticles by sol-gel as nanocontainer for future drug delivery applications. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. V. 56(3), p. 139-145. 2017.

WANG, C.; ZHANG, Z.; CHEN, B.; GU, L.; LI, Y.; YU, S. Design and evaluation of galactosylane chitosan/graphene oxide nanoparticles as a drug delivery system. *Journal of Colloid and Interface Science*. V. 516, p. 332-341. 2018.

WOJTYCZKA, R. D.; DZIEDZIC, A.; KEPA, M.; KUBINA, R.; DZIK, A. K.; MULARZ, T.; IDZIK, D. Berberine Enhances the Antibacterial Activity of Selected Antibiotics against Coagulase-Negative *Staphylococcus strains in Vitro*. *Molecules*. V. 19, p. 6583-6596. 2014.

WU, G. Y.; FANG, F. D.; LIU, J. Z.; CHANG, A.; HO, Y. H. Study on the mechanism of action of indirubin in the treatment of chronic granulocytic leukemia. I. Effects on nucleic acid and protein synthesis in human leukemic cells. *Chinese Med. J.* V. 60, p. 451-454. 1980.

WU, H. L.; CHUANG, T. Y.; HENDY, A. A.; DIAMOND, M. P.; AZZIZ, R.; CHEN, Y. H. Berberine inhibits the proliferation of human uterine leiomyoma cells. *Fertility and Sterility*. V. 103(4). 2015.

XAVIER, A. C. F. Incorporação em lipossomos da aloína e imobilização em filmes nanoestruturados para aplicação em liberação modificada de fármacos. *Dissertação de Mestrado*. Sorocaba. 2011.

YUE, J.; WANG, Z.; SHAO, D.; CHANG, Z.; HU, R.; LI, L.; LUO, S. Z.; DONG, W. F. Cancer cell membrane-modified biodegradable mesoporous silica nanocarriers for berberine therapy of liver cancer. *RSC Advances*. V. 8, p. 40288-40297. 2018.

ZHANG, Y.; CUI, Y. L.; GAO, L. N.; JIANG, H. L. Effects of  $\beta$ -cyclodextrin on the intestinal absorption of berberine hydrochloride, a P-glycoprotein substrate. *International Journal of Biological Macromolecules*. V. 59, p. 363-371. 2013.