

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Cúrcuma (*Curcuma longa L.*): avaliação de suas nanopartículas em um modelo animal de depressão

Gizele Bruna Barankevicz

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2018

Gizele Bruna Barankevicz
Bacharela em Nutrição

Cúrcuma (*Curcuma longa L.*): avaliação de suas nanopartículas em um modelo animal de
depressão
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Profa. Dra. **JOCELEM MASTRODI SALGADO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de
Alimentos

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Barankevicz, Gizele Bruna

Cúrcuma (*Curcuma longa L.*): avaliação de suas nanopartículas em um modelo animal de depressão / Gizele Bruna Barankevicz. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

59 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Cúrcuma. 2. Nanotecnologia 3. Alimentos funcionais. 4. Depressão I.
Título

RESUMO

Cúrcuma (*Curcuma longa L.*): avaliação de suas nanopartículas em um modelo animal de depressão

Os objetivos desse estudo foram caracterizar modelos experimentais validados para avaliação da depressão em animais; avaliar a viabilidade do desenvolvimento de nanopartículas de cúrcuma a partir do encapsulamento com zeína pelo método de dispersão líquido-líquido; avaliar sua possível atividade antidepressiva em ratos submetidos ao protocolo de estresse crônico moderado e imprevisível (ECMI), considerado modelo preditivo para indução de depressão. No protocolo experimental foram utilizados 40 ratos da linhagem Sprague- Dawley divididos em 5 grupos (n=8 ratos/grupo): Estresse crônico moderado e imprevisível+nanopartículas (ECMI+NANO), Nanopartícula + Controle (NANO), Estresse crônico moderado e imprevisível + Veículo (ECMI), Estresse crônico moderado e imprevisível + fluoxetina (ECMI+FLUOX), Controle + Veículo (CONTROLE) sendo veículo a água filtrada,também utilizada para ressuspender as nanopartículas. A avaliação de anedonia, considerada chave para mensuração do ECMI, confirmou que o protocolo foi efetivo para avaliar esse comportamento. No TNF observou-se que, os grupos estressados apresentaram maiores valores de imobilidade, comportamento similar ao desamparo aprendido. A administração de nanopartículas (10 mg kg^{-1}) previu a elevação dos níveis de corticosterona em ratos submetidos ao protocolo de ECMI. Estes dados sugerem que as nanopartículas de zeína contendo cúrcuma podem contribuir para uma possível ação neuroprotetora deste alimento funcional na depressão Além disso, comprovou-se que o encapsulamento possibilitou a elaboração de nanopartículas com boas características, apresentando alta eficiência de encapsulamento e baixo índice de polidispersão.

Palavras-chave: Cúrcuma; Nanotecnologia; Alimentos funcionais; Depressão

ABSTRACT

Turmeric (*Curcuma longa* L.): evaluation of their nanoparticles in an animal model of depression

The objectives of this study were to characterize validated experimental models for the evaluation of depression in animals; to evaluate the viability of the development of turmeric nanoparticles from the zein encapsulation by the liquid-liquid dispersion method; to evaluate its possible antidepressant activity in rats submitted to the chronic mild and unpredictable stress procedure (CMUS), considered a predictive model for induction of depression. In the experimental protocol, 40 Sprague-Dawley rats were divided into 5 groups ($n = 8$ rats / group): chronic mild and unpredictable stress procedure + nanoparticles (CMUS + NANO), Nanoparticle + Control (NANO), chronic mild and unpredictable stress procedure + Vehicle (CMUS), chronic mild and unpredictable stress procedure + fluoxetine (CMUS + FLUOX), Control + Vehicle (CONTROL) being a filtered water vehicle, also used to resuspend the nanoparticles. The evaluation of anhedonia, considered key to CMUS measurement, confirmed that the protocol was effective in evaluating this behavior. In TNF, it was observed that the stressed groups showed higher values of immobility, a behavior similar to learned helplessness. The administration of nanoparticles (10 mg kg^{-1}) prevented the elevation of corticosterone levels in rats submitted to the CMUS protocol. These data suggest that turmeric-containing zein nanoparticles may contribute to a possible neuroprotective action of this functional food in depression. In addition, it was verified that the encapsulation allowed the elaboration of nanoparticles with good characteristics, presenting high encapsulation efficiency and low polydispersion index.

Keywords: Curcuma; Nanotechnology; Functional foods; Depression

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a cidade de Mara Rosa - GO possui o maior plantio comercial de açafrão com aproximadamente 300 hectares. A maior parte da produção é destinada às indústrias de alimentos e corantes. O açafrão dessa região, possui selo de identificação geográfica, garantindo a origem do produto (ANDRADE, 2004).

Utilizada principalmente devido a sua cor, o açafrão da terra, conhecido popularmente como cúrcuma, é o diferencial no curry indiano, proporcionando sabor e ação conservante neste tempero tradicional. Comercialmente é utilizada como especiaria, fonte de amido industrial e corante. Devido ao número de grupos hidroxilas na estrutura do seu anel aromático possui alta atividade antioxidante (ROSSI et al., 2008; HAMAGUCHI; ONOL; YAMADA, 2010; NAM et al., 2014).

A composição do rizoma apresenta em maior proporção o amido, contendo cerca de 60 a 70% de carboidratos e em menor quantidade lipídeos (8-17%), proteínas (6-8%) , minerais (3 a 7%) e fibras (2-7%) (MAHMOOD et al., 2015).

Sendo utilizada principalmente como corante natural, a cúrcuma, tem seu uso limitado a essa aplicação devido ao desconhecimento de suas funções terapêuticas em algumas doenças. A cúrcuma tem despertado atenção por suas inúmeras atividades funcionais, dentre elas a atividade antioxidante e antidepressiva (TILAK et al., 2004; BABU et al., 2007).

Os compostos presentes no açafrão são denominados curcuminoïdes, os quais conferem a coloração amarelo-alaranjada marcante, cujos teores variam de 2 a 6% no rizoma. Os principais curcuminoïdes são curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina (NAGPAL;SOOD, 2013; MAHMOOD et al., 2015; CHANG et al., 2016).

A ingestão média diária dessa especiaria na Índia é de aproximadamente 2 a 2,5 g/dia. Considerando um indivíduo de peso médio (60 kg), isso equivale a uma ingestão média de 60 a 100 mg de curcuminoïdes por dia, sendo considerada como dose segura a ingestão de até 12 g de curcuminoïdes diariamente (MAHMOOD et al., 2015).

A curcumina é o principal pigmento fenólico encontrado na cúrcuma, correspondendo a aproximadamente 77% dos curcuminoïdes. Possui potente ação antioxidante, anfi-inflamatória, antitumoral, anti-HIV e propriedades antimicrobianas.

(DE et al, 2009; WANG et al, 2009; EMBUSCADO et al., 2015; (MAHMOOD et al., 2015).

É também capaz de reduzir significativamente os sintomas depressivos (ALKARAWI; AL MAMOORI; TAYYAR 2015).

Distúrbios na atividade das monoaminas (serotonina, dopamina e noradrenalina), processos imuno-inflamatórios, modificações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, são observadas em indivíduos com depressão. Em contrapartida os potenciais efeitos da curcumina na fisiopatologia da depressão são possivelmente correlacionados com a capacidade que esse composto possui em modular os substratos neurobiológicos associados a doença (KAUFMANN et al 2016). Os possíveis efeitos biológicos desse composto na depressão incluem: inibição da monoamina oxidase, liberação de mediadores como serotonina e a dopamina, regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, e modulação de fatores neurotróficos, neuroplasticidade e neurogênese e efeito neuroprotetor (LI et al., 2009; HUANG et al, 2011; ZHANG et al., 2012; LOPRESTI et al., 2015; SEO et al., 2015).

Apesar de muitas evidências de sua eficácia e segurança, a curcumina apresenta instabilidade ao pH fisiológico, lenta absorção pelas células e rápido metabolismo dentro da célula, baixa solubilidade em água e má absorção, fatores que reduzem sua biodisponibilidade e podem consequentemente diminuir os benefícios desse composto bioativo (SUN et al., 2018).

O processo de extração com solventes é fundamental para preservação das propriedades da cúrcuma, tanto que a agência reguladora vigente em cada país implementou uma lista com os solventes aprovados e os limites residuais permitidos para os curcuminoides que forem destinados ao mercado de alimentos. Nesse sentido a indústria busca tecnologias para melhorar a biodisponibilidade e concentração plasmática, uma delas é a nanotecnologia (GHALANDARLAKI et al., 2014).

Nesse contexto, o presente estudo foi conduzido visando à produção de nanopartículas de zeína contendo cúrcuma, pelo método de dispersão líquido-líquido. As nanopartículas foram caracterizadas empregando diferentes metodologias a fim de verificar sua eficiência e posteriormente avaliadas por meio de um modelo de experimentação animal na depressão.

Assim, esta tese foi organizada em três capítulos. O primeiro é a introdução sobre o estudo. No segundo capítulo, apresenta-se a revisão sobre dois modelos experimentais validados para avaliar a depressão em animais, os quais foram

aplicados no estudo. No terceiro capítulo, objetivou-se a produção de nanopartículas contendo cúrcuma e sua possível atividade antidepressiva em ratos submetidos ao estresse crônico moderado e imprevisível. Posteriormente foram avaliados parâmetros como indução de anedonia, tempo de imobilidade e o biomarcador corticosterona.

REFERÊNCIAS

- AL-KARAWI, D; MAMOORI, D.A.; TAYYAR, Y. The role of curcumin administration in patients with major depressive disorder: Mini Meta Analysis of Clinical Trials. **Phytotherapy Research**, DOI: 10.1002, 2015.
- ANDRADE, J. W. S. **Produção e crescimento do açafrão (*Curcuma longa L.*) em função do tamanho do rizoma e densidade do plantio, em Goiás**. 2004. 62 p. Tese- Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, 2004.
- BABU, K.G.D.; SHANMUGAM, V.; RAVINDRANATH, S.D.; JOSHI, V.P. Comparison of chemical composition and antifungal activity of *Curcuma longa L.*, leaf oils produced by different water distillation techniques. **Flavour and Fragrance Journal**, New York, v.22, p.191-196, 2007.
- CHANG, X.; WANG, L.; LI, J.; WU, D. Analysis of anti-depressant potential of curcumin against depression induced male albino wistar rats. **Brain Reserch**, p. 219-225, 2016.
- DE, R.; KUNDU, P.; SWARNAKAR, S.; RAMAMURTHY, T.; CHOWDHURY, A.; NAIR, G.B.; MUKHOPADHYAY, AK. Antimicrobial activity of curcumin against *Helicobacter pylori* isolates from India during infections in mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, n.53, p.1592-1597, 2009.
- EMBUSCADO, M.E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. **Journal of Functional Foods**, n.18, p. 811.819.2015.
- GHARSALLAOUI, A. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**. vol. 40, p. 1107-1121, Jul. 2007.
- HAMAGUCHI, T.; ONOL, K.; YAMADA, M.; Curcumin and Alzheimer's Disease. **CNS neuroscience and therapeutics**, Oxford. v.16, n.5, p.285-297, Oct. 2010.
- HUANG, Z.; ZHONG, X.M; LI, Z.Y.; FENG, C.R.; PAN, A.J.; MAO, Q.Q. Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats. **Neurosci. Lett**, v.493, n.3, p.145-148.
- KAUFMANN, F.N.; GAZAL, M.; BASTOS, C.R.; KASTER, M.P.; GHISLENI, G. Curcumin in depressive disorders: an overview of potential mechanisms, preclinical and clinical findings. **European Journal of Pharmacology**, v. 784, p. 192 – 198, 2016.

- LI, Y.C.; WANG, F.M.; PAN, Y.; QINAG, L.Q.; CHENG, G.; ZHANG, W.Y.; KONG, L.D. Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-Camp path way in chronic unpredictable mild stress of rats. **Prog. Neuropsychopharmacol.Biol. Psychiatry**, v.33, n.3, p.435-449. 2009.
- LOPRESTI, A.; MAES, M.; MEDDENS, M.J.M.; MAKER, G.L.; ARNOULDUSSEN, E.; DRUMMOND, P.D. A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial investigating the potential of peripheral biomarkers to predict treatment response and antidepressant mechanisms of change. **European Neuropsychopharmacology**, v. 25, p. 38-50, 2015.
- MAHMOOD, K.; ZIA, K.M.; ZUBER, M.; SALMAN, M.; ANJUM, M.N. Recent developments in curcumin and curcumin based polymeric materials for biomedical application: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.81, p. 877 – 890, 2015.
- NAGPAL, M.; SOOD, S. Role of curcumin in systemic and oral health: Na overview. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, n.4, v.1, p.3-7, 2013.
- NAM, S.M.; CHOI, J.H.; YOO, D.Y.; KIM, W.; JUNG, H.Y.; KIM, J.W.; YOO, M.; LEE, S.; KIM, C.J.; YOON, Y.S.; HWANG, I.K. Effects of Curcumin (*Curcuma longa*) on learning and spatial memory as well as cell proliferation and neuroblast differentiation in adult and aged mice by upregulating brain-derived neurotrophic factor and CREB signaling. **Journal of Medicinal Food**, Larchmont v.17, n.6, p.641-649, Jun. 2014.
- ROSSI, L.; MAZZITELLI, S.; ARCIELLO, M.; CAPO, C.R.; ROTILIO, G. Benefits from dietary polyphenols for brain aging and Alzheimer's disease. **Neurochemical Research**, Nova York, v. 33, n.12, p.2390-2400, Dec. 2008.
- SEO, H.J.; WANG, S.M.; HAN, C.; LEE, S.J. PATKAR, A.A.; MASAND, P.S.; PAE, C.U. Curcumin as a putative antidepressant. **Expert Rev. Neurother**, n.15, p.269-280. 2015.
- SUN, J. et al. Role of curcumin in the management of pathological pain. **Phutomedicine**. Stuttgart, vol.48, p. 129-140. Mar. 2018.
- TILAK, J.C.; BANERJEE, M.; MOHAN, H.; DEVASAGAYAM, T.P.A. Antioxidant availability of turmeric in relation to its Medicinal and Culinary uses. **Phytotherapy Research**, London, v.18, p.798-804, Nov. 2004.

WANG, Y.; LU, Z.; WU, H.; LV, F. Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **Int J Food Microbiol**, v.30,n.1, p.71-74. Sep.2009.

ZHANG, J., JINNAL, S.; IKEDA, R.; WADA, M.; HAYASHIDA, S.; NAKASHIMA. A simple HPLC- fluorescence method for quantitation of curcuminoids and its application on turmeric products. **Analytical Sciences**, Tokyo,v.25, p.385-389, Mar. 2009.

2. MODELOS ANIMAIS VALIDADOS PARA A DEPRESSÃO: DESAFIOS

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi caracterizar dois modelos experimentais validados, estresse crônico moderado e imprevisível e o teste de natação forçada, para avaliar a depressão e suas limitações. Foram usadas as bases de dados Scielo, Lilacs e Pubmed, a fim de realizar o levantamento bibliográfico amplo sobre como empregar essas metodologias e seus principais vieses encontrados em estudos que utilizaram essas ferramentas. Pode-se caracterizar a importância da experimentação animal no estudo da depressão, bem como a dificuldade em avaliar-se o comportamento típico de depressão seja em ratos ou camundongos e, delinear o processo metodológico acerca dos métodos empregados, que são considerados reproduzíveis e validados. A experimentação animal, assim como os estudos clínicos em humanos, tem permitido a compreensão dos diversos processos fisiológicos e patológicos que acometem a população. Modelos experimentais devem apresentar uma precisão adequada e devem ser funcionalmente, o mais semelhante possível ao que se objetiva estudar. A experimentação em animais relacionada com pesquisas sobre depressão é de extrema importância no processo de descoberta de novas formas de prevenção e tratamento para essa doença tão crescente no mundo

Palavras-chave: Experimentação animal; Depressão; Estresse fisiológico

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize two validated experimental models, moderate and unpredictable chronic stress and forced swimming test to evaluate depression and its limitations. The databases Scielo, Lilacs and Pubmed were used in order to carry out the broad bibliographic survey on how to use these methodologies and their main biases found in studies that used these tools. It is possible to characterize the importance of animal experimentation in the study of depression, as well as the difficulty in evaluating the typical behavior of depression be in rats or mice and to outline the methodological process about the methods used, which are considered reproducible and validated. Animal experimentation, as well as clinical studies in humans, has allowed the understanding of the various physiological and pathological processes that affect the population. Experimental models must have adequate accuracy and should be functionally as similar as possible to what is intended to be studied. Experimentation with animals related to research on depression is extremely important in the process of discovering new forms of prevention and treatment for this growing disease in the world

Keywords: Animal experimentation; Depression; Physiological stress

REFERÊNCIAS

1. Ferreira LM, Ferreira LRK. Experimental model: historic and conceptual revision. *Acta Cir Brasi* 2003; 18:1-3.
2. Conde-Vancells J, Rodriguez-Suarez E, Gonzalez E, Berisa A, Gil D, Embade N, Valle, M, et al. Candidate biomarkers in exosome-like vesicles purified from rat and mouse urine samples. *Proteomic Clin Appl* 2010; 4:416-25.
3. Gui KO, Andersen ML, D'Almeida V, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães JE, et al. Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação. São Paulo: UNIFESP; 2004.
4. Calabrese EJ. Principles of animal extrapolation. ed. Lewis Publishers: Michigan; 1991
5. Nestor S, Mirian AB. Carta ao editor. *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde* 2008; 33: 7.
6. Santos IS, Tavares BF, Munhoz TN, Almeida LSP, Silva NTB, Tams BD, et al. Sensibilidade e especificidade do Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) entre adultos da população geral. *Cadernos da Saúde*. 2013; 29 :1533-43
7. Ribeiro JM, Inglez-Dias A. Políticas e inovação em atenção a saúde mental: limites ao descolamento do desempenho do SUS. *Ciência & Saúde Coletiva* 2011; 16:4623-4633.
8. Abelha, L. Depressão uma questão de saúde pública. *Cadernos de Saúde Coletiva* 2014. 22(3): 223-223.
9. Michelon L, Cordeiro Q, Vallada, H. Depressão. *Revista Brasileira De Medicina* 2008; 65: 15-25.
10. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual Of Mental Disorders*. 5 th ed. Washington 2013. 991 p.
11. Aarsland D, Pahlhagen S, Ballard CG, Ehrt, U, Svenssonsson, P. Depression in Parkinson disease: epidemiology, mechanisms and management. *Nature reviews neurology*, 2012; 8: 35-47.
12. Eulálio, MC, Andrade TF, Melo RLP, Neri AL. A estrutura latente da depressão em idosos: uma análise taxométrica. *Cadernos de Saúde Pública* 2014. 31 (3): 555-564.

13. Feinstein A, Magalhães S, Richard JF, Audet B, Moore C. The link between multiple sclerosis and depression. *Nature reviews neurology*, London 2014; 10: 507-517.
14. Teng CT, Cezar LTS. Depressão. *Revista Brasileira de Medicina*. São Paulo 2010; 67:37-52.
15. Nabavi SM, Daglia M, Braidy N, Nabavi SF. Natural products, micronutrients, and nutraceuticals for the treatment of depression: A short review. *Nutritional neuroscience*. 2017; 3: 180-94.
16. Lafer B, Vallada Filho HP. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 1999; 21(1): 12-17.
17. Sakata K. Brain-derived neurotrophic factor for depression therapeutics. *Austin J Parmacol Ther*. 2014; 2(1):1006.
18. Hidaka BH. Depression as a disease of modernity: explanations for increasing prevalence. *Journal of Affective Disorders*. 2012; 140:205-214.
19. Luo J, Zhang L, Ninga N, Jiangc, Yua SY. Neotrofin reverses the effects of chronic unpredictable mild stress on behavior via regulating BDNF, PSD-95 and synaptophysin expression in rat. *Behavioural Brain Research*. 2013; 253:48-53.
20. McGonigle P. Animal models of CNS disorders. *Biochem Pharmacol*. 2014; 87: 140-49
21. Garcia R. Stress, metaplasticity, and antidepressants. *Current Molecular Medicine*, 2002; 2: 629-638
22. Dellagioia N, Hannestad J. A critical review of human endotoxin administration as an experimental paradigm of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2010; 34: 130-143.
23. Insel TR. From animal models to model animals. *Biol Psychiatry*. 2007; 62: 1337-1339.
24. Jones CA, Watson DJ, Fone KC. Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol*. 2011; 164(4): 1162-1194
25. Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience*. 2010; 13:1161-1169.
26. Razafsha M, Behforuzi H, Harati H, Wafai RAI, Khaku A, Mondello S, et al. An updated overview of animal models in neuropsychiatry. *Neurosci*. 2013; 240:104-218.

- 27.Savla U. Responsible conduct in animal research. *The Journal of clinical investigation.* 2003; 112.
- 28.Roberts I, Kwan I, Evans P, Haig S. Does animal experimentation inform human healthcare? Observations from a systematic review of international animal experiments on fluid resuscitation. *British Medical Association* 2002;324:474-476
- 29.Siegrist J, Lunau T, Wahrendorf M, Dragano, N. Depressive symp psychosocial stress at work among older employees in three continents. *Globalization and Health* 2012; 8:1-8. 2012.
- 30.Moreau, JL, Jenck F, Martin JR, Perrin S, Haefely WE. Effects of repeated mild stress and two antidepressant treatments on the behavioral response to 5HT1C receptor activation in rats. *Psychopharmacology.* 1993; 110:140-144
- 31.Moreau JL. Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression. *Encephale.*1997; 23:280-289.
- 32.Willner,P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology.* 2005; 52:90-110.
- 33.Chen H, Pandey GH, Dwivedi, Y. Hippocampal cell proliferation regulation by repeated stress and antidepressants. *Neuroreport.* 2006; 7:863-867.
- 34.Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neuroscience and biobehavioral reviews.* 1981; 5:247-251
- 35.Abelaira HM, Reus GZ, Quevedo J. Animal models as tools to study the pathophysiology. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2013; 35: 112-120
- 36.Konarska M, Stewart RE, McCarty R. Predictability of chronic intermittent stress: effects on sympathetic-adrenal medullary responses of laboratory rats. *Behavioral Neural Biology.* 1990; 53(2): 231-243.
- 37.Harro J, Tonissaar M, Eller M, Kask A, Oreland L. Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry. *Brain Research.* 2001; 899(1-2): 227-239.
- 38.Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Pereira JG, Stertz L, Gavioli EC, Kapczinski F, Quevedo J. Chronic mild stress paradigm reduces sweet food intake in rats without affecting brain derived neurotrophic factor protein levels. *Current Neurovascular Research.* 2008; 5(4): 207-213.

- 39.Garcia LS, Comim CM, Valvassori SS, Reus GZ, Stertz L, Kapczinski F, Gavioli EC , Quevedo J. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biology Psychiatry*. 2009;33(3): 450-455.
- 40.Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Reus GZ, Vuolo F, Petronilho F, Dall-Pizzol F, Gavioli EC, Quevedo J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochemistry International*. 2009;54(5-6):358-362.
- 41.Neves VJ, Moura MJCS, Almeida BS, Costa R, Sanches A, Ferreira R, Tamascia ML, Romani EA, Novaes PD, Marcondes FK. Chronic stress, but not hypercaloric diet, impairs vascular function in rats. *Stress*. 2012;15(2):138-148.
- 42.Neves VJ, Moura MJCS, Tamascia ML, Ferreira R, Silvia NS, Costa R, Montemor PL, Narvaes EAO, Bernardes CF, Novaes PD, Marcondes FK. Proatherosclerotic effects of chronic stress in male rats: Altered phenylephrine sensitivity and nitric oxide synthase activity of aorta and circulating lipids. *Stress*. 2009; 12(4):320-327.
- 43.Grippo A, Johnson AK. Biological mechanisms in the relationship between depression and heart disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2002; 26(8)941-962.
- 44.Cryan JF, Sweeney FF. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug Discovery. *Br J Pharmacol*. 2011; 164: 1129-1161.
- 45.Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977; 266:730-732.
- 46.Calil CM, Biachi FJ, Tanno AP, Cunha TS, Marcondes FK. Análise do significado do tempo de imobilidade em modelos experimentais de natação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2002; 38(4):479-485.
- 47.Calil CM, Marcondes FK. The comparison of immobility time in experimental rat swimming models. *Life Sciences*. 2006;79:1712-1719.
- 48.Liu GX, Cai GQ, Sheng ZJ, Jiang J, Mei Z, Wang ZG, Guo L, Fei J. Reduced Anxiety and Depression-Like Behaviors in Mice Lacking GABA Transporter Subtype. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32:1531-1539.
- 49.Barankevicz GB. Poder antioxidante da curcuma (*Curcuma longa* L.) nos parâmetros neuroquímicos em ratos induzidos a depressão [dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP; 2015
- 50.Borsini F, Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*. 1988;94:147-161.

NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA CONTENDO CÚRCUMA: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA

RESUMO

A cúrcuma é considerada um alimento promissor na redução dos riscos do desenvolvimento da depressão. No entanto, devido a sua baixa biodisponibilidade e consequentemente má absorção sua utilidade acaba tornando-se limitada. A nanoencapsulação é uma técnica que reduz o tamanho da partícula do composto bioativo, possibilitando o aumento da absorção. O objetivo desse estudo foi desenvolver nanopartículas de cúrcuma a partir do encapsulamento com zeína pelo método de dispersão líquido-líquido e avaliar sua possível atividade antidepressiva em ratos submetidos ao protocolo de estresse crônico moderado e imprevisível (ECMI). No protocolo experimental foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Sprague-Dawley divididos em 5 grupos ($n=8$ ratos/grupo): Estresse crônico moderado e imprevisível+nanopartículas (ECMI+NANO), Nanopartícula + Controle (NANO), Estresse crônico moderado e imprevisível + Veículo (ECMI), Estresse crônico moderado e imprevisível + fluoxetina (ECMI+FLUOX), Controle + Veículo (CONTROL) onde veículo foi água filtrada, a mesma utilizada para ressuspender as nanopartículas. A avaliação de anedonia, sintoma similar da depressão em humanos, confirmou que o protocolo foi efetivo para avaliar esse comportamento. No teste de natação forçada observou-se que, os grupos estressados apresentaram maiores valores de imobilidade. A administração de nanopartículas de zeína contendo cúrcuma (10 mg kg^{-1}) previniu a elevação dos níveis de corticosterona em ratos submetidos ao protocolo de ECMI. Estes resultados indicam que as nanopartículas de zeína contendo cúrcuma podem contribuir para uma possível ação neuroprotetora deste alimento funcional na depressão. Além disso, comprovou-se que o encapsulamento possibilitou a elaboração de nanopartículas com boas características, apresentando alta eficiência de encapsulamento e baixo índice de polidispersão.

Palavras chaves: Nanotecnologia; Depressão; Cúrcuma

ABSTRACT

Turmeric is considered a promising food in reducing the risks of developing depression. However, due to its low bioavailability and consequently malabsorption its usefulness ends up becoming limited. Nanoencapsulation is a technique that reduces the particle size of the bioactive compound, allowing the increase of absorption. The objective of this study was to develop turmeric nanoparticles from the zein encapsulation by the liquid-liquid dispersion method and to evaluate its possible antidepressant activity in rats submitted to the chronic mild and unpredictable stress procedure (CMUS). In the experimental protocol, 40 male Sprague-Dawley rats were divided into 5 groups ($n = 8$ rats / group): chronic mild and unpredictable stress procedure + nanoparticles (CMUS + NANO), Nanoparticle + Control (NANO), chronic mild and unpredictable stress procedure + Fluoxetine (CMUS + FLUOX), Control + Vehicle (CONTROL) where vehicle was filtered water, the same used to resuspend the nanoparticles. The evaluation of anhedonia, a similar symptom of depression in humans, confirmed that the protocol was effective in evaluating this behavior. In the forced swimming test, it was observed that the stressed groups had higher immobility

values. The administration of zein nanoparticles containing turmeric (10 mg kg^{-1}) prevented the elevation of corticosterone levels in rats submitted to the CMUS protocol. These results indicate that turmeric-containing zein nanoparticles may contribute to a possible neuroprotective action of this functional food in depression. In addition, it was verified that the encapsulation allowed the elaboration of nanoparticles with good characteristics, presenting high encapsulation efficiency and low polydispersion index.

Keywords: Nanotecnology; Depression; Turmeric

REFERÊNCIAS

- AHMED, T.; GILANI, A.H. A comparative study of curcuminoids to measure their effect on inflammatory and apoptotic gene expression. In na A β plus ibotenic acid- infused rat model of Alzheimer's disease. **Brain Res.** p.1–18.2011.
- ALMADA, L.F.; BORGES, MF.; MACHADO, S.E.C. Considerações neurobiológicas sobre a depressão maior: um histórico neurocientífico. **Revista de Psicologia**, São Paulo, v. 17, n. 26, p.111-124, jul. 2014.
- APA-AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION. **Depression**. Disponível em: <www.apa.org> Acesso em: agosto, 2018.
- BASPINAR, Y.; USTUNDAS, M.; BAYRAKTAR, O.; SEZGIN, C. Curcumin and piperine loaded zein-chitosan nanoparticles: Development and in-vitro characterisation. **Saudi Pharmaceutical Journal**. n.26, p.323-334.2018.
- CHEN, Y.; YE, R.; LIU, J. Effects of different concentrations of ethanol and isopropanol on physicochemical properties of zein-based films. **Industrial Crops and Products**. v.53, p.140-147. 2014.
- CHEN, Y.; YE, R.; LIU, J. Understanding of dispersion and aggregation of suspensions of zein nanoparticles in aqueous alcohol solutions after thermal treatment. **Industrial Crops and Products**. n. 50, p.764-770. 2013.
- CHISHOLM, D. et al. Scaling-up treatment of depression and anxiety: a global return on investment analysis. **The Lancet Psychiatry**, London, v.3, 2016.
- CHO, E.J. Nanoparticle Characterization: State of the Art, Challenges, and Emerging Technologies. **Molecular Pharmaceutics**. v.10, p.2093-2110.2013.
- DE, R.; KUNDU, P.; SWARNAKAR, S.; RAMAMURTHY, T.; CHOWDHURY, A.; NAIR, G.B.; MUKHOPADHYAY, AK. Antimicrobial activity of curcumin against Helicobacter pylori isolates from India during infections in mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, n.53, p.1592-1597, 2009.
- DEL SOCORRO, M.M.L.; TEVES, F.G.; MADAMBA, M.R.S.B. DNA-binding activity and partial characterization by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) of Curcuma longa L. SC-CO₂ extracts. **Int. Res. J. Biol. Sci.**, v.2, n.5, p.40-4, 2013.
- EMBUSCADO, M.E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. **Journal of Functional Foods**, n.18, p. 811-819.2015.
- GHALANDARLAKI, N.; ALIZADEH, A.; ASHKANI-ESFAHANI, S. Nanotechnology- AppliedCurcumin for Different Diseases Therapy. **BioMed Research International**. v.2014,p.1-23. Jun. 2014.
- GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A.B. Curcumin as “curecumin”: From kitchen to clinic.

- Biochemistry Pharmacology**, Oxford, v. 75, p. 787-809, Feb. 2008.
- GÓMEZ-ESTACA, J.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.29,p. 302-307.2015.
- GRIPPO, A.; JOHNSON, A.K. Biological mechanisms in the relationship between depression and heart disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v.26, n.8, p. 941-962, Dec.2002.
- GRIPPO, A.; JOHNSON, A.K. Biological mechanisms in the relationship between depression and heart disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v.26, n.8, p. 941-962, Dec.2002.
- GRIPPO, A.J.; BELTZ, T.G.; JOHNSON, A.K. Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression. **Physiology & Behavior**, Oxford, n.78, p.703-710, 2003.
- GROSS, M.; PINHASOV, A. Chronic mild stress in submissive mice: Marked polydipsia and socialavoidance without hedonic deficit in the sucrose preference test. **Behavioural Brain Research**. Amsterdam. v. 298, p;25–34. 2016.
- HAMAGUCHI, T.; ONOL, K.; YAMADA, M.; Curcumin and Alzheimer's Disease. **CNS neuroscience and therapeutics**, Oxford. v.16, n.5, p.285-297, Oct. 2010
- HUANG, Z. et al. Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats. **Neuroscience Letters**. v. 493, p; 145–148. 2011.
- URLEY, L.L.; AKINFIRESOYE, L.; NWULIA, E.; KAMIYA, A.;KULKARNI, A.A.; TIZABI, Y.Antidepressant-like effects of curcumin in WKY rat model of depression is associated with an increase in hippocampal BDNF. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, n.239, p.27-30, Feb. 2013.
- JAIN, S.; JAIN, A.K.; POHEKAR, MILIND.; THANKI, KAYSHIK. **Free Radical Biology and Medicine**, New York v.65, p.117-130. dez.2013.
- KAUFMANN, F.N.; GAZAL, M.; BASTOS, C.R.; KASTER, M.P.; GHISLENI, G. Curcumin in depressive disorders: an overview of potential mechanisms, preclinical

- and clinical findings. **European Journal of Pharmacology**, v. 784, p. 192 – 198, 2016.
- KIM, H.J.; KIM, D.J.; KARTHICK, S.N.; HEMALATHA, K.V.; RAJ, C.J.; OK, S.; CHOE, Y. Curcumin dye extracted from *Curcuma longa L.* used as sensitizers for efficient dye-sensitized solar cells. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v.8, n.6, p.8320-8, 2013.
- KHALIL, N.M. et al. Pharmacokinetics of curcumin-loaded PLGA and PLGA-PEG blend nanoparticles after oral administration in rats. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam. v.101, n.1. jan. 2013.
- LEE, M.S. et al. Lifetime prevalence of suicide ideation, plan, and attempt in metropolitan China. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, Copenhagen, v. 11, n.6, p. 429-437, 2007.
- LIAO, J.C. et al. Antidepressant-like activity of turmerone in behavioral despair tests in mice. **BMC Complement Altern Med**, v.13, n. 299. 2013.
- LIVNEY, Y. D . Nanostructured delivery systems in food: latest developments and potential future directions. **Current Opinion in Food Science**. v. 3,p. 125-135.2015.
- LUO, Y.; WANG, Q. . Zein-based micro- and nano-particles for drug and nutrient delivery: a review. **Journal of Applied Polymer Science**. v.131, n.16. 2014
- MOHANRAJ, V.J.; CHEN, Y. Nanoparticles- A review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. v.5, v.1. p.561-573.
- MOREAU, J.L. Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression. **Encephale**, Paris, v.23, n.4,p.280-289, Jul.1997.
- NAM, S.M.; CHOI. J.H.; YOO.D.Y.; KIM, W.; JUNG, H.Y.; KIM, J.W.; YOO, M.; LEE, S.; KIM, C.J.; YOON, Y.S.; HWANG, I.K. Effects of Curcumin (*Curcuma longa*) on learning and spatial memory as well as cell proliferation and neuroblast differentiation in adult and agedmice by upregulating brain-derived neurotrophic factor and CREB signaling. **Journal of Medicinal Food**, Larchmont v.17, n.6, p.641-649, Jun. 2014.
- PALIWAL, R.; PALAKURTHI, S. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. **J Control Release**, Amsterdam. p.108-22. 2014.
- PATEL, A.R.; BOUWENS, E.C.M.; VELIKOV, K.P. Sodium caseinate stabilized zein colloidal particles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.58, n.23, p. 12497–12503. 2010.

- PENALVA, R.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C.J.; GAMAZO, C.; ESPARZA, I.; IRACHE, J.M. Zein nanoparticles for oral delivery of quercetin: Pharmacokinetic studies and preventive anti-inflammatory effects in a mouse model of endotoxemia. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, New York. v.13.p.103-110. 2017.
- PEREIRA, C.A; MOREIRA, M.R. **Cultivo da Curcuma longa L. (Açafrão-da-Índia ou Cúrcuma)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical , 2009. p.2. (Comunicado Técnico).
- PINHEIRO, A.C.; COIMBRA, M.A; VICENTR, A.A. In vitro behaviour of curcumin nanoemulsions stabilized by biopolymer emulsifiers e Effect of interfacial composition. **Food Hydrocolloids**, v.52, p. 460-467.2016
- PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, London, v. 266, p. 730-732, Apr.1977.
- RAVICHANDRAN.R. Studies on Dissolution Behaviour of Nanoparticulate Curcumin Formulation. **Advances in Nanoparticles**, v.2, p. 51- 59, 2013.
- ROSSI, L.; MAZZITELLI, S.; ARCIELLO, M.; CAPO, C.R.; ROTILIO, G. Benefits from dietary polyphenols for brain aging and Alzheimer's disease. **Neurochemical Research**, Nova York, v. 33, n.12, p.2390-2400, Dec. 2008.
- SANMUKHANI, J. et al. Efficacy and safety of curcumin in major depressive disorder: a randomized controlled trial. **Phytotherapy Research**, v. 28, n.4, p. 579-585, abr. 2013.
- SAS INSTITUTE. **SAS System**: SAS/STAT version 9.1 (software). Cary, 2003.
- SCHAFFZAZICK, S.R. et al. Protective properties of melatonin-loaded nanoparticles against lipid peroxidation. **Int J Pharm**. n. 289, p.209-213. 2005.
- SHAIKH, J.; ANKOLA, D.D.,; BENIWAL, V.; SINGH, D.; KUMAR, M.N. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. **Eur J. Pharm Sci.** v.37.n 3-4, p.223-30. 2009.
- SIGRIST, M. S. Divergência genética em Curcuma longa L. utilizando marcadores microssatélites e agromorfológicos. 2009. Dissertação-Instituto Agronômico, Campinas. 2009.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed. São Paulo: Bookman, 2002.

- SILVA et al. Depressão e risco de suicídio entre profissionais de Enfermagem: revisão integrativa. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, v. 49, n.6. 2015.
- STUART, B. Biological Applications of Infrared Spectroscopy, John Wiley & Sons, Chichester, 1997.
- SUN, M. et al. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin. **Nanomedicine**, London. v.7, n.7, p. 1085-1100. 2012.
- WANG, Y.; LU, Z.; WU, H.; LV, F. Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **Int J Food Microbiol**, v.30, n.1, p.71-74. Sep.2009.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression**. Disponível em: <<http://www.who.int/>> Acesso em: 05 julho 2016.
- WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, New York, v.52, p.90-110, Jul. 2005.
- YAO, M.; MCCLEMENTS, D.J.; XIAO, H. Improving oral bioavailability of nutraceuticals by engineered nanoparticle-based delivery systems. **Current Opinion in Food Science**. v. 2, p. 14-19.2015.
- ZAMARIOLI, C.M.; MARTINS, R.M.; CARVALHO, E.C.; FREITAS, L.A.; Nanoparticles containing curcuminoids (*Curcuma longa*): development of topical delivery formulation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. São Paulo. n.25, p.53-60. 2015.
- ZHANG, Q.; LIU, C.; SUN, Z.; HU, X.; SHEN, Q.; WU, J. Authentication of edible vegetable oils adulterated with used frying oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Food Chemistry**, n.132, p.1607-1613, 2012.
- ZHANG, Z-Y. et al. Enhanced Therapeutic Potential of Nano-Curcumin Against Subarachnoid Hemorrhage-Induced Blood–Brain Barrier Disruption Through Inhibition of Inflammatory. **Mol Neurobiol**, Clifton, v.1, n.1, p.1-14. dez.2015.
- ZHONG, Q.; MINFENG, JIN. Zein nanoparticles produced by liquid-liquid dispersion. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.2380-2387. 2009.

CONCLUSÕES GERAIS

A utilização de modelos animais na depressão, é fundamental para verificar a eficácia de possíveis antidepressivos. No entanto, existe escassez de modelos validados e também não há consenso em um modelo “padrão ouro”. Mesmo com essas limitações há a necessidade de investigar os mecanismos de ação da doença bem como a descoberta de novas substâncias eficazes na redução dos sintomas ou redução dos riscos do desenvolvimento da depressão. O ECMI e a Natação Forçada, diante de suas limitações, ainda são considerados bons modelos para avaliação de antidepressivos, porém é necessário a manutenção de uma boa reproduzibilidade entre os laboratórios de pesquisa. Em relação a isso esse estudo verificou a comprovação do protocolo de ECMI por meio da verificação do comportamento de anedonia, e a utilidade do TNF, verificado pela imobilidade nos animais, para avaliar possíveis agentes de origem natural eficazes na redução dos sintomas depressivos. Porém muitos alimentos apresentam baixa biodisponibilidade, e a nanoencapsulação surge como uma alternativa. Nesse estudo a zeína, agente encapsulante utilizado para obtenção de nanopartículas contendo cúrcuma pelo método de dispersão líquido-líquido, mostrou-se como um bom material para essa técnica, com eficiência e encapsulação de 100%. As nanopartículas apresentaram boas características tecnológicas, indicando a viabilidade de sua produção por esse método. O tratamento com as nanopartículas contendo cúrcuma 10mg kg⁻¹ evitou a elevação dos níveis de corticosterona quando comparado ao grupo estresse, resultado similar no grupo estresse fluoxetina foi encontrado, indicado assim uma atividade da cúrcuma análoga ao antidepressivo.