

Elaborarea de modele conceptuale si experimentale pentru izolarea si purificarea squalenei, caracterizarea fizico-chimica, obtinere de nanoparticule lipidice si formulare farmaceutica a produselor pe baza de squalena

Rezumatul etapei

In prima etapa a fost redactat un studiu critic al datelor de literatură privind potențialele surse de squalenă, metodele de obținere, de analiză fizico-chimică și posibilitățile de utilizare ale acesteia. Datele de literatură au evidențiat ca potențiale surse de squalenă uleiul din semințe de *Amaranthus* sp.(până la 7-8%), uleiul de dovleac (2,6–3,5 g/kg), uleiul de măsline (200-7500 mg/kg), uleiul de germeni de grâu. De asemenea în ultimii ani, s-a dovedit promițătoare și sinteza microbiană a squalenei.

Metodele de izolare, de fracționare a amestecurilor lipidice și de purificare a squalenei, prezentate în literatură, pot fi împărțite în două mari categorii: a) extracția cu solvenți organici (hexan), urmată de purificarea uleiului; b) extracția semințelor și fracționarea uleiului cu CO₂ supercritic.

Squalena, un precursor al colesterolului, are proprietăți antioxidante, protejând pielea împotriva acțiunii radiației UV și a radicalilor liberi. Fiind component natural al pielii, este unul dintre cei mai buni emolienți. Este utilizat în vaccinuri, produse dermato-cosmetice și, nu în ultimul rând, în terapia bolii cancerose.

Analiza datelor de literatură privind tehnicile și metodele de determinare a squalenei din materii prime vegetale și din soluții extractive a relevat faptul că determinarea squalenei se bazează pe metode cromatografice fie GC (GC-MS) fie HPLC (HPLC-UV, HPLC-DAD, HPLC-MS, HPLC/ESI-MS, HPLC/Nano-ESI-MS-MS). Au fost analizate comparativ limita de detecție, limita de cuantificare, posibilitatea determinării simultane a mai multor componenți de interes.

Au fost elaborate protocoalele de lucru pentru metodele de analiză mai sus menționate. Acestea au fost testate pe mai multe uleiuri de amarant și dovleac, extrase prin metode diferite și prelucrate în mod diferit.

S-a realizat un studiu critic al datelor de literatură privind obținerea și posibilitățile de utilizare ale membranelor pentru separarea componentelor minore din uleiurile vegetale, cu referire specială la separarea componentelor nepolare. Pe baza acestui studiu au fost elaborate 2 modele conceptuale privind separarea/purificarea/concentrarea squalenei din uleiuri vegetale utilizând tehnicile membranare. Au fost realizate practic 5 membrane care au fost caracterizate prin analiză termogravimetrică și din punct de vedere al performanțelor hidrodinamice.

Au fost elaborate 4 modele experimentale de extracție a uleiului din *Amaranthus* și dovleac și 11 variante de scheme de flux pentru fracționarea concentrarea și purificarea squalenei. Au fost realizate experimente de laborator preliminar pentru extracția uleiului de *Amaranthus* și dovleac.

Au fost obținute nanostructuri lipidice – NLCs („Nanostructured Lipid Carriers”) pe bază de squalenă provenită din 3 surse total diferite: Squalena comercială (izolată din ficat de rechin), extract de squalena din dovleac și extract de squalena din amarant.

S-au realizat sinteze în mediu apos atât de NLC-uri libere, cât și încărcate cu 2 tipuri de substanțe active de natură sintetică. Caracterizarea preliminară a sistemelor apoase de nanotransportori lipidici preparați pe baza de squalena, liberi și încărcate cu cele 2 ecrane solare, s-a realizat pe baza tehnicii de împrăștiere dinamică a luminii (DLS).

Caracterizarea nanoparticulelor lipidice ce înglobează BMDDBM și OCT pe baza modificărilor structurale apărute în matricile lipidice mixte, s-a realizat pe baza analizei termice diferențiale (DSC). Pentru evaluarea capacității de solubilizare a celor două tipuri de ecrane solare în noile tipuri de NLC preparate cu cele 2 categorii de surse vegetale (dovleac și amarant), și în scop comparativ cu NLC-uri preparate cu squalena din ficat de rechin, s-a determinat eficiența de incorporare (EE%), pe baza spectroscopiei de absorbție UV-VIS. Evaluarea activității antioxidante a nanostructurilor de tip NLCs libere și încărcate cu OCT și BMDDBM, s-a realizat prin metoda chemiluminescenței, utilizând ca sistem generator de chemiluminescență sistemul luminol – H₂O₂, în tampon Tris – HCl, pH = 8,6. Evaluarea eficienței produselor dermato-cosmetice s-a realizat prin determinarea factorului de protecție solară (SPF), *in vitro* prin metoda Diffey și Robson. Aceasta metoda are la baza măsurarea spectrelor UV-VIS (în domeniul 290 – 400 nm), utilizând un suport (martor) de TRANSPORE™ 3M. În vederea cuantificării factorului de protecție solară și pentru observarea influenței încapsulării asupra stabilității fotochimice a probelor de NLCs încărcate cu OCT și BMDDBM la radiația UV, NLC-urile obținute au fost incorporate într-un transportor cosmetic adecvat (o crema de bază). Aceasta crema model pe bază de NLC – OCT și BMDDBM a fost expusă la lumină UV, prin iradiere cu o energie slabă (întâlnită la orele după amiezi) de 19,5 J/cm² de scurtă durată (1h) și pe o perioadă prelungită (3h).

Indicatori de rezultat:

Raport științific: Metode de extracție, identificare și determinare a squalenei și utilizările acesteia

Modele experimentale: Extracția uleiului din amarant și dovleac (presare, solvenți organici, SFE), dozarea squalenei din surse vegetale prin GC și HPLC, dozarea conținutului de acizi grași din uleiurile vegetale de amarant și dovleac, sinteza în mediu apos a nanostructurilor lipidice libere și încărcate cu substanțe cu acțiune de ecran solar, caracterizarea nanoparticulelor lipidice

Diseminare:

Co-Encapsulation of Butyl-Methoxydibenzoylmethane and Octocrylene into Squalene-Based Lipid Nanocarriers for Improved Photoprotection

Autori: *Niculae Gabriela, Badea Nicoleta, Lăcătușu Ioana, Meghea Aurelia*

“Third International Workshop on Advanced Nano- and Biomaterials and Their Device Applications”, NABM 3; 19 – 23 septembrie 2012, Timisoara

In Vitro Cultivated Explant Type Influence on the expression of totipotency in different varieties of Amaranthus sp.

Autori: *Danaila-Guidea Silvana, Babeanu Narcisa, Popa Ovidiu, Popa Ioana, Stanciu Denisa*

“6th International Conference of the European Amaranth Association: Neglected and Under-utilized Species Research in 21st Century”; 21-24 Oct. 2012, Nitra, Slovak Republic

The International Conference of the University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest-Agriculture for Life, Life for Agriculture” 4-6 oct 2012 Bucuresti

Preliminary studies on in vitro behaviour of various somatic explants from some cultivated Amaranthus genotypes

Autori: *Danaila-Guidea Silvana, Babeanu Narcisa, Popa Ovidiu, Popa Ioana, Stanciu Denisa*