

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO**

CRISTINA MARA ZAMARIOLI

Formulação tópica para prevenção e tratamento de radiodermites:
desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)
contendo curcuminoides e estudo *in vitro*.

**RIBEIRÃO PRETO
2014**

CRISTINA MARA ZAMARIOLI

Formulação tópica para prevenção e tratamento de radiodermites:
desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)
contendo curcuminoides e estudo *in vitro*.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa Enfermagem Fundamental.

Linha de Pesquisa: Fundamentação teórica, metodológica e tecnológica do processo de cuidar em enfermagem.

Orientanda: Cristina Mara Zamarioli

RIBEIRÃO PRETO
2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Zamarioli, Cristina Mara

Formulação tópica para prevenção e tratamento de radiodermites: desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) contendo curcuminoides e estudo in vitro. Ribeirão

Preto, 2014. 139 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem Fundamental.

Orientador: Emilia Campos de Carvalho

1. curcuminoides. 2. nanopartículas lipídicas sólidas. 3. radiodermites. 4. enfermagem

ZAMARIOLI, Cristina Mara

Formulação tópica para prevenção e tratamento de radiodermites: desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) contendo curcuminoides e estudo *in vitro*.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa Enfermagem Fundamental.

Aprovado em: / /

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ **Instituição:** _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr. _____ **Instituição:** _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr. _____ **Instituição:** _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

DEDICATÓRIA

À todos que poderão ser beneficiados pelo produto que está sendo desenvolvido, eliminando inúmeras preocupações de vidas tão sofridas como a dos pacientes oncológicos.

À enfermagem que, com muita garra, tem tentado melhorar a qualidade de vida dos pacientes contando, por vezes, com um arsenal pequeno numa guerra tão grande.

Ao grupo de pesquisa Enfermagem e Comunicação que tem se empenhado em pesquisar temas alternativos, com ousadia e dedicação.

À Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo que tem possibilitado um enorme avanço na produção do conhecimento para a ciência enfermagem.

À Faculdade de Ciência Farmacêuticas de Ribeirão Preto, por permitir este intercâmbio de conhecimento de forma tão generosa e acolhedora.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que com seus trabalhadores incansáveis, conspirou para a realização de uma pesquisa como esta, partindo de uma aparente “tábula rasa”.

Aos meus pais, que com muito empenho, amor e dedicação permitiram meu retorno ao lar e a permanência em tempos difíceis. Meu eterno amor e respeito.

À minha querida orientadora Professora Doutora Emilia Campos de Carvalho. Uma pessoa ímpar, com uma visão que vai além do que imaginamos. Uma pioneira na enfermagem em estudos com um elevado grau de complexidade. Uma mente rápida e iluminada que nunca cerceou minhas ideias e vôos. Obrigada pelo crescimento individual, coletivo e acolhimento. Sempre segura, objetiva, honesta e apaziguadora. Minha eterna admiração e respeito Mestre.

Ao professor Dr Luis Alexandre Pedro de Freitas, uma pessoa adorável, com um espírito jovem e bem humorado, que abriu as portas de seu laboratório simplesmente acreditando num sonho. Obrigada pelos seus ensinamentos, ponderações e paciência com as minhas limitações. Minha gratidão e respeito.

Aos meus amigos, que tiveram muita paciência com minha ausência e esquecimentos... Meu humor não era dos melhores em muitos momentos e nem isso abalou nossa amizade.

Aos companheiros do Laboratório de Física Industrial e Processos Industriais Farmacêuticos: Ana Rita, Rodrigo, Simone, Anna Beatriz, Marcela, Tatiane, Thiago e Aurea pela ajuda imensurável para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos técnicos de laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto: Cenzi, Natália, Fernando e Patrícia pelas contribuições durante o desenvolvimento deste.

Aos meus amigos do Laboratório de Enfermagem e Comunicação: Aline, Ana Cláudia, Danielle, Talita, Natália, Adilson, Janaina, Sheila e Railka pela contribuição e crescimento durante este período.

À Rose, tão acolhedora e que praticamente me levou pelas mãos durante este período.

Ao Programa de Enfermagem Fundamental, que foi fundamental nesta etapa da minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por fornecer recursos para minha formação e para a realização desta pesquisa.

EPÍGRAFE

O que é o sucesso?

Rir muito e com frequência; ganhar o respeito de pessoas inteligentes e o afeto de crianças; merecer a consideração de críticos honestos e suportar a traição de falsos amigos; apreciar a beleza, encontrar o melhor nos outros; deixar o mundo um pouco melhor, seja por uma saudável criança, um canteiro de jardim ou uma redimida condição social; saber que ao menos uma vida respirou mais fácil porque você viveu.

Isto é ter sucesso!

Ralph Waldo Emerson

RESUMO

ZAMARIOLI, C. M. **Formulação tópica para prevenção e tratamento de radiodermites: desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) contendo curcuminoides e estudo *in vitro***. 2014, 139f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

O objetivo principal deste projeto foi desenvolver formulação tópica contendo nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) incorporando curcuminoides. **Método:** foi utilizado o método da microemulsão para a produção das NLS; espalhamento dinâmico de luz para avaliar tamanho de partículas, potencial zeta e PDI; microscopia de força atômica para avaliação morfológica; ainda foi avaliada a eficiência de encapsulação, capacidade de carga, perfil de liberação e permeação cutânea *in vitro*. **Resultados e discussão:** Foram feitos seis planejamento fatoriais, tipo *Box-Behnken*, modificando fatores como porcentagem de curcuminoides, tempo e temperatura de homogeneização e proporção de tensoativos. A média dos tamanhos de partículas nos seis planejamentos variou de 210,4 nm (DP \pm 146,6) a 2984 nm (DP \pm 1173); a do potencial zeta de -7,06 (DP \pm 13,87) a -30,40 (DP \pm 4,16); a do PDI de 0,222 (DP \pm 0,125) a 0,5653 (DP \pm 0,362); estes dados reforçam os da literatura que dizem que o tamanho das partículas pode ser influenciado pela velocidade e tempo de agitação. No 6º planejamento, a média da eficiência de encapsulação de curcumina e dos curcuminoides foi de 52,92% (DP \pm 5,41) e 48,39% (DP \pm 6,62), respectivamente. Dados da literatura apontam que para fármacos lipofílicos, a eficiência de encapsulação pode ser superior a 50%. A média da capacidade de carga de curcumina foi de 24,13 % (DP \pm 6,12) e dos curcuminoides totais de 32,20% (DP \pm 9,56); uma revisão apontou que a capacidade de carga de fármacos lipofílicos estava em torno de 25%. As imagens topográficas mostraram partículas de formato esférico com diâmetros que variaram entre 52 nm e 101 nm; menor do que o mensurado por espalhamento dinâmico de luz. Quanto à liberação, houve inicialmente uma liberação acelerada e, após 2 horas, um perfil de liberação mais controlado, conforme visto na literatura, que pode ser explicada pela difusão dos curcuminoides associados à superfície e aos poros das NLS, seguida da erosão da partícula, combinada com a difusão dos componentes encapsulados. A formulação tópica apresentou boa espalhabilidade e estabilidade quando submetido a teste de estresses mecânico. No teste preliminar de estabilidade da formulação, com seis ciclos de 48 horas, 24 horas em estufa a 40°C \pm 2°C e 24 horas em geladeira 5°C \pm 2°C, o gel permaneceu homogêneo, de coloração amarelo-brilhante e com odor característico e não apresentou separação de fase com 3000 rpm por 30 minutos e nem alteração significativa de pH. Não houve permeação e somente houve penetração na epiderme/derme que foi exposta ao gel com curcuminoides livres. **Considerações finais:** A formulação tópica é estável e pode ser utilizada em estudos posteriores, *in vivo*, para o tratamento de reações inflamatórias locais como a radiodermite; o perfil de liberação controlado, associado ao fato de se formar uma barreira cutânea pelas NLS, ainda pode melhorar a hidratação cutânea.

Palavras-chave: curcuminoides; nanopartículas lipídicas sólidas; radiodermite; enfermagem.

ABSTRACT

ZAMARIOLI, C. M. **Topical formulation for the prevention and treatment of radiodermatitis: development of solid lipid nanoparticles (SLN) containing curcuminoids and *in vitro* study.** 2014, 139f. Master's Thesis – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

The main objective of this project was developing topical formulation containing solid lipid nanoparticles (SLN), adding to curcuminoids. **Method:** microemulsion method to produce SLN; dynamic light scattering to assess particle size, zeta potential and PDI; atomic force microscopy for morphological evaluation; the encapsulation efficiency was tested also, loading capacity, release and skin permeation profile *in vitro* was assessed too. **Results and discussion:** 6 Box- Behnken factorial designs were made by modifying factors such as percentage of curcuminoids, time and temperature of homogenization and surfactant ratio. The average particle size in the 6 planning ranged from 210.4 nm (SD \pm 146.6) to 2984 nm (SD \pm 1173); the zeta potential of -7,06 (SD \pm 13.87) to -30.40 (SD \pm 4.16); the PDI of 0.222 (SD \pm 0.125) to 0.5653 (SD \pm 0.362). These data remain the literature that comments about the possibility of the particle size can be influenced by the speed and stirring time. At 6^o planning, the average encapsulation efficiency of curcumin and curcuminoids was 52.92% (SD \pm 5.41) and 48.39 % (SD \pm 6.62), respectively. Literature data indicate that for the lipophilic drug, the encapsulation efficiency may be greater than 50%. The average load capacity of curcumin was 24.13% (SD \pm 6.12) and total curcuminoids of 32.20% (SD \pm 9.56). A review showed that the load capacity of lipophilic drugs was around 25%. The topographic images showed spherical particles with diameters ranging between 52 nm and 101 nm; less than that measured by dynamic light scattering. As for the release, the initial rapid release and after 2 hours, one more controlled release profile, as seen in the literature, which one can be explained by the diffusion of curcuminoids associated with a surface and pores of the NLS, followed them by erosion of the particle, combined with the diffusion of the encapsulated components. The topical formulation showed good spreadability and stability when it was subjected to mechanical stress test. In the preliminary test of stability of formulation 6 cycles of 48 hours, 24 hours and incubated at 40°C \pm 2°C and 24 hours in the refrigerator 5°C \pm 2°C, resulted on a homogeneous gel, presenting a bright -yellow color, with characteristic odor and showed no phase separation with 3000 rpm for 30 minutes and no significant change in pH. Permeation didn't occur, only penetration in the epidermis/dermis which ones were exposed to the gel with free curcuminoids. **Final thoughts:** The topical formulation is stable and it can be used in further studies, "*in vivo*", for the treatment of inflammatory reactions as radiodermatitis; the controlled release profile associated with the fact to form a barrier skin from the NLS, it can also improve skin hydration.

Keywords: curcuminoids; solid lipid nanoparticles; radiodermatitis; nursing.

RESUMEN

ZAMARIOLI, C. M. **Formulación tópica para la prevención y el tratamiento de la radiodermatitis: desarrollo de nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) que contienen curcuminoides y el estudio *in vitro***. 2014. 139f. Máster (MSc) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

El objetivo principal de este proyecto fue el desarrollo de una formulación tópica que contiene nano-partículas sólidas lipídicas (SLN) incorporando curcuminoides. **Método:** fue utilizado el Método de la micro-emulsión, para la producción de las NLS; esparción dinámica de luz para evaluar el tamaño de las partículas, el potencial zeta y PDI; microscopía de fuerza atómica para la evaluación morfológica; además, se evaluó el perfil de eficacia de encapsulación, la capacidad de carga, la liberación y permeación cutánea “*in vitro*”. **Resultados y discusión:** fueron realizados seis diseños factoriales de Box-Behnken, modificando factores como el porcentaje de curcuminoides, tiempo y temperatura de homogeneización y proporción de tenso-activos. El tamaño medio de partículas en los 6 diseños de planificación varió de 210,4 nm (SD \pm 146,6) a 2984 nm (SD \pm 1173); el potencial zeta de -7,06 (DE \pm 13,87) a -30,40 (SD \pm 4,16); el PDI de 0.222 (SD \pm 0.125) a 0.5653 (SD \pm 0.362). Estos datos refuerzan la literatura que dice que el tamaño de la partícula puede estar influenciado por la velocidad y el tiempo de agitación. En el sexto diseño el promedio de eficiencia de encapsulación de la curcumina y los curcuminoides fue 52,92 % (DE \pm 5,41) y 48,39 % (DE \pm 6,62), respectivamente. Datos de la literatura indican que para fármacos lipofílicos, la eficacia de encapsulación puede ser mayor que 50%. La capacidad de carga promedio de la curcumina fue 24,13 % (DE \pm 6,12) y de los curcuminoides totales de 32,20 % (SD \pm 9,56). Un estudio demostró que la capacidad de carga de fármacos lipofílicos giró en torno del 25%. Las imágenes topográficas mostraron partículas esféricas con diámetros que oscilan entre 52 nm y 101 nm; menor que el medido por dispersión dinámica de luz. En cuanto a la liberación hubo inicialmente una aceleración y después de 2 horas, un perfil de liberación más controlado, conforme con la literatura, pudiéndose explicar por difusión de curcuminoides asociados con la superficie y a los poros de la NLS, seguido por la erosión de la partícula en combinación con la difusión de los componentes encapsulados. La formulación tópica mostró buena extensibilidad y estabilidad cuando fue sometida a prueba de esfuerzo mecánico. En el ensayo preliminar de estabilidad de la formulación con 6 ciclos de 48 horas, 24 horas se incubó a 40°C \pm 2°C y 24 horas en el refrigerador 5°C \pm 2°C, el gel permaneció homogéneo, de color amarillo brillante, y con olor característico. No presentó separación de fases con 3000 rpm durante 30 minutos, ni alteración significativa del pH. Solo hubo penetración en la epidermis/dermis que fue expuesta al gel con curcuminoides libres. **Consideraciones finales:** la formulación tópica es estable y puede ser utilizada en otros estudios “*in vivo*” para el tratamiento de reacciones inflamatorias como radiodermatitis; el perfil de liberación controlada asociada al hecho de formar una barrera cutánea por las NLS, puede además mejorar la hidratación de la piel.

Palabras clave: curcuminoides; nanopartículas sólidas lipídicas; radiodermatitis; enfermería.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Planejamento Fatorial tipo Box-Behnken 3 ³	53
Tabela 2	Níveis e codificações das variáveis estudadas no 1° planejamento 3 ³	54
Tabela 3	Níveis e codificações das variáveis estudadas no 2° planejamento 3 ³	55
Tabela 4	Níveis e codificações das variáveis estudadas no 3° planejamento 3 ³	57
Tabela 5	Níveis e codificações das variáveis estudadas no 4° planejamento 3 ³	58
Tabela 6	Níveis e codificações das variáveis estudadas no 5° planejamento 3 ³	59
Tabela 7	Níveis e codificações das variáveis estudadas no 6° planejamento 3 ³	60
Tabela 8	Concentrações utilizadas para a obtenção da curva padrão de curcumina	67
Tabela 9	Tempo de retenção e área representada dos curcuminoides.....	71
Tabela 10	Componentes das formulações de NLS (valores em % w/w), tamanho das partículas obtidas, índice de polidispersividade e potencial zeta.....	74
Tabela 11	Tamanho das partículas obtidas, índice de polidispersividade e potencial zeta, expressos em média e desvio padrão.....	75
Tabela 12	Tamanho das partículas obtidas, índice de polidispersividade e potencial zeta.....	75
Tabela 13	Tamanho das partículas obtidas, índice de polidispersividade e potencial zeta.....	76
Tabela 14	Análise realizada por espalhamento dinâmico de luz das NLS do 1° Planejamento.....	77
Tabela 15	Análise realizada por espalhamento dinâmico de luz das NLS do 2° Planejamento.....	82
Tabela 16	Análise realizada por espalhamento dinâmico de luz das NLS do 3° Planejamento.....	86
Tabela 17	Análise realizada por espalhamento dinâmico de luz das NLS do 4° Planejamento.....	91
Tabela 18	Análise realizada por espalhamento dinâmico de luz das NLS do 5° Planejamento.....	94
Tabela 19	Análise realizada por espalhamento dinâmico de luz das NLS do 6° Planejamento.....	98
Tabela 20	Eficiência de encapsulação e rendimento de curcumina e curcuminoides totais.....	104

Tabela 21	Capacidade de carga de curcumina e curcuminoides totais.....	105
-----------	--	-----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Exposições agudas localizadas e toxicidade.....	21
Figura 2	Efeitos das radiações ionizantes sobre as camadas da pele.....	22
Figura 3	Critérios Comuns de Toxicidade relacionados à dermatite por radiação..	22
Figura 4	Estruturas da pele.....	24
Figura 5	Vias de transporte de fármacos pelo estrato córneo.....	26
Figura 6	Ilustração da flor de <i>Curcuma longa</i> Linn.....	29
Figura 7	Rizoma de <i>Curcuma longa</i> Linn.....	32
Figura 8	Ilustração geral de uma típica nanopartícula lipídica sólida.....	34
Figura 9	Fluxograma de atividades desenvolvidas no projeto.....	50
Figura 10	Ilustração do 1° planejamento.....	54
Figura 11	Ilustração do 2° planejamento.....	55
Figura 12	Ilustração do 3° planejamento.....	56
Figura 13	Ilustração do 4° planejamento.....	57
Figura 14	Ilustração do 5° planejamento.....	59
Figura 15	Ilustração do 6° planejamento.....	60
Figura 16	Curva padrão obtida com as concentrações de curcumina.....	69
Figura 17	Cromatograma do padrão de curcumina na concentração de 2.500 ng/mL	70
Figura 18	Cromatograma do tempo de retenção dos curcuminoides.....	71
Figura 19	Cromatograma do tempo de retenção das NLS com curcuminoides.....	72
Figura 20	Placas de Petri com diferentes lipídeos e concentrações de curcuminoides	73
Figura 21	Influência dos fatores estudados no 1° planejamento sobre o tamanho das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%....	78
Figura 22	Superfície de respostas para o tempo no Turrax e a proporção de lecitina/ <i>Tween</i> 80 (X2*X3) para tamanho das partículas.....	79
Figura 23	Influência dos fatores estudados no 1° planejamento sobre o PdI das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	80
Figura 24	Influência dos fatores estudados no 1° planejamento sobre o potencial zeta das partículas, com nível de significância de 5%.....	81
Figura 25	Influência dos fatores estudados no 2° planejamento sobre o tamanho das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	83
Figura 26	Influência dos fatores estudados no 2° planejamento sobre o PdI das	

	partículas, com nível de significância de 5%.....	84
Figura 27	Superfície de respostas dos entre a porcentagem de curcuminoides/cera e proporção de lecitina/Tween 80 (X1*X3) no PdI das partículas.....	85
Figura 28	Influência dos fatores estudados no 2° planejamento sobre o potencial zeta das partículas, com nível de significância de 5%.....	85
Figura 29	Influência dos fatores estudados no 3° planejamento sobre o tamanho das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	87
Figura 30	Influência dos fatores estudados no 3° planejamento sobre o PdI das partículas, com nível de significância de 5%.....	88
Figura 31	Influência dos fatores estudados no 3° planejamento sobre o potencial zeta das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.	89
Figura 32	Superfície de respostas dos entre a porcentagem de curcuminoides/cera e proporção de lecitina/Tween 80 (X1*X3) para o potencial zeta.....	90
Figura 33	Influência dos fatores estudados no 4° planejamento sobre o tamanho das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	92
Figura 34	Influência dos fatores estudados no 4° planejamento sobre o PdI das partículas, com nível de significância de 5%.....	92
Figura 35	Influência dos fatores estudados no 4° planejamento sobre o potencial zeta das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	93
Figura 36	Influência dos fatores estudados no 5° planejamento sobre o tamanho das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	95
Figura 37	Influência dos fatores estudados no 5° planejamento sobre o PdI das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	96
Figura 38	Influência dos fatores estudados no 5° planejamento sobre o potencial zeta das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	97
Figura 39	Superfície de respostas dos entre a porcentagem de curcuminoides/cera e o tempo de homogeneização (X1*X2) para o potencial zeta.....	97
Figura 40	Representação gráfica da porcentagem de intensidade de tamanho de partículas dos experimentos de 1 a 6 do 6° planejamento fatorial.....	99
Figura 41	Representação gráfica da porcentagem de intensidade de tamanho de partículas dos experimentos de 7 a 12 do 6° planejamento fatorial.....	100

Figura 42	Representação gráfica da porcentagem de intensidade de tamanho de partículas dos experimentos de 13a 15 do 6° planejamento fatorial.....	100
Figura 43	Influência dos fatores estudados no 6° planejamento sobre o tamanho das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	101
Figura 44	Influência dos fatores estudados no 6° planejamento sobre o PdI das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	102
Figura 45	Influência dos fatores estudados no 6° planejamento sobre o potencial zeta das partículas, com linha vertical indicando o nível de significância de 5%.....	102
Figura 46	Representação das NLS. Vista topográfica 46A e frontal 46B.....	106
Figura 47	Perfil de liberação dos curcuminoides das NLS.....	107
Figura 48	Valores de pH da formulação durante o teste de estabilidade.....	109
Figura 49	Experimento com células de difusão vertical tipo Franz.....	110
Figura 50	Cromatograma da penetração de curcuminoides na epiderme/derme do controle positivo.....	110
Figura 51	Esquema da formação de barreira cutânea e da penetração das NLS desenvolvidas.....	111

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

RESUMEN

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Apresentação do tema de estudo.....	19
1.2. Radiodermites.....	21
1.3. Pele e processo de reparo tecidual.....	24
1.4. <i>Curcuma longa</i> Linn.....	28
1.5. Sistemas carreadores cutâneos de curcumina.....	33
2. OBJETIVOS	47
2.1. Objetivo principal.....	47
2.2. Objetivos específicos.....	47
3. MÉTODO	49
3.1. Padronização de metodologia analítica para quantificação de curcuminoides por cromatografia líquida de alta performance (UHPLC).....	49
3.2. Testes preliminares: componentes.....	51
3.3. Testes preliminares: processos.....	52
3.4. Planejamentos fatoriais.....	52
3.5. Análise estatística.....	61
3.6. Caracterização das NLS.....	62
3.7. Eficiência de encapsulação.....	64
3.8. Capacidade de carga.....	64
3.9. Análise morfológica.....	65
3.10. Perfil de liberação.....	65
3.11. Formulação tópica.....	66
3.11.1. Estabilidade da formulação.....	66
3.11.2. Estudos de permeação/penetração <i>in vitro</i>	66
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1. Padronização de metodologia analítica para quantificação de curcuminoides por cromatografia líquida de alta performance (UHPLC).....	69
4.2. Testes preliminares: componentes.....	72
4.3. Testes preliminares: processos.....	76

4.4. Planejamentos fatoriais.....	77
4.4.1. Caracterização das NLS: tamanho, PDI e potencial zeta.....	77
4.5. Eficiência de encapsulação.....	104
4.6. Capacidade de carga.....	105
4.7. Análise morfológica.....	106
4.8. Perfil de liberação.....	106
4.9. Formulação tópica.....	108
4.9.1. Estabilidade preliminar.....	108
4.9.2. Estudos de permeação.....	109
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	114
6. DIFICULDADES E LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	117
7. RESULTADOS QUE EXTRAPOLAM O ESCOPO DESTE ESTUDO.....	119
8. REFERÊNCIAS.....	121

INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1. Apresentação do tema de estudo

Na oncologia, campo de interesse neste projeto de pesquisa, vem sendo implementada uma política de formação e treinamento de recursos humanos na tentativa de instrumentalizar as regiões para atuarem de modo mais equânime na prevenção, detecção precoce e tratamento do câncer. Trata-se, na maioria das vezes, de ações de estruturação de serviços de alta complexidade bem como políticas para melhorar a articulação de serviços de diagnóstico, circunscritos a um dado número de pessoas.

Os serviços de saúde, em contrapartida, ainda possuem um arsenal de combate limitado ao potencial de incorporação do avanço tecnológico. No entanto, apesar de tamanha evolução em comparação aos anos 90, ainda contamos com um número limitado de fármacos medicamentos (bem como suas combinações), materiais e equipamentos, sem mencionar a distribuição espacial destes últimos, que remeteria a uma discussão nas esferas política, econômica e social.

Concomitantemente a estes avanços, as reações adversas relacionadas à terapêutica oncológica estão presentes em escala considerável, interferindo diretamente na qualidade de vida relacionada à saúde dos pacientes, a despeito da também crescente evolução dos paliativos. A assistência de enfermagem permeia esta atmosfera e tem um espaço muito importante como idealizadora de protocolos de assistência pautados na melhor prática clínica, primando pela melhora do cuidado prestado aos clientes.

Neste cenário, na prevenção e tratamento de lesões por radiação, pouca atenção tem sido dada ao delineamento de resposta regenerativa de produtos fitoterápicos. Em consonância, o paradigma atual remete-se à incorporação de substâncias menos tóxicas, economicamente incorporáveis e úteis na cicatrização de feridas, ao encontro com a estratégia de incentivo do uso de fitoterapia e fitofármacos em âmbito nacional.

A utilização da curcumina, um dos princípios ativos extraídos do rizoma da *Curcuma longa* Linn tem sido estudada na aceleração da cicatrização de lesões relacionadas à radiação (JAGETIA; RAJANIKANT, 2012), uma toxicidade inerente ao tratamento oncológico. A despeito da baixa toxicidade, a baixa biodisponibilidade também dificulta sua administração por via oral e as alternativas mais recentes foram a utilização de carreadores em escala micro e nanométrica para sua administração, tanto por via oral quanto parenteral e tópica.

Na década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu o uso de fitoterápicos. Na década seguinte o Brasil, a partir de uma política sobre plantas medicinais e produtos fitoterápicos, recomendou o uso destes produtos definindo como prioridade o estudo de plantas medicinais nas pesquisas clínicas (BRASIL, 1981). Também foi lançado o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais para obter o desenvolvimento de uma terapêutica alternativa e complementar baseado no conhecimento científico e no real valor farmacológico de preparações de uso popular (BRASIL, 2006).

Acompanhando esta evolução, em maio de 2006, o Ministério da Saúde aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), recomendando, em caráter nacional, a adoção pelas Secretarias de Saúde dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios, a implantação de ações e serviços relativos às Práticas Integrativas e Complementares (BRASIL, 2006).

Um Comitê Técnico Temático de Apoio às Políticas de Plantas Medicinais e Fitoterápicos foi instituído para apoiar a implantação e implementação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, no intuito de garantir, aos usuários do SUS, fitoterápicos segundo a legislação vigente, e partindo dele, elaborou-se o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, que dá suporte às práticas de manipulação e dispensação de fitoterápicos nos Programas de Fitoterapia.

No âmbito da Enfermagem, a Resolução COFEN 197/1997 (COREn, 2001) estabelece e reconhece a Fitoterapia como uma das Terapias Alternativas passíveis de serem desenvolvidas por enfermeiros especialistas e qualificados na atenção à pessoa sob seus cuidados.

A relevância deste projeto está no desenvolvimento tecnológico de formulação tópica contendo nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) como carreadoras de curcuminoides que será utilizada em estudo posterior, com intuito de avaliar seu potencial para a prevenção e tratamento de radiodermite, que é uma preocupação constante para a enfermagem oncológica.

No percurso deste projeto inicialmente tornou-se necessário a compreensão deste tipo de lesão, bem como da constituição da pele e dos processos de dano tecidual e de seu reparo. Seguiu-se um olhar para as propriedades e potenciais de utilização dos curcuminoides, culminando em uma aproximação à aplicação da nanotecnologia como uma alternativa para melhorar a aplicabilidade destes. Tais aspectos compõem os itens descritos em continuidade, à guisa de introdução.

1.2. Radiodermites

Segundo Firmino (2007) “o câncer é um importante fator sistêmico que afeta o processo de cicatrização, por tratar-se de uma doença catabólica de consequente impacto desfavorável sobre o estado nutricional do paciente oncológico”. Dentre as principais modalidades de tratamento citam-se a cirurgia oncológica, a quimioterapia, a radioterapia, a radiocirurgia, a hormonioterapia, o transplante de células tronco hematopoéticas - TCTH e a terapia alvo molecular.

Atualmente, metade dos portadores de neoplasias é tratada com radioterapia, um tipo de tratamento que tem como complicação associada uma reação cutânea denominada radiodermite (BRASIL, 2011). A administração da radioterapia não provoca dor e, em muitos tratamentos paliativos, nos quais são utilizadas baixas doses, os efeitos colaterais são mínimos. Entretanto, quando doses mais altas são necessárias, as complicações relacionadas podem ser mais severas (Figura 1).

Dose absorvida (Gy)	Sintomatologia
> 4	Epilação temporária.
16 a 20	Epilação definitiva.
6 a 12	Radiodermite eritematosa que se manifesta oito dias após a exposição por dor e vermelhidão; frequentemente substituída por pigmentação acentuada.
16 a 20	Radiodermite exsudativa (bolhas, lesões) que regride em 5 ou 6 semanas.
25	Radiodermite e radionecrose que se manifesta por um eritema precoce, dor, exsudação; o processo evolui para uma ulceração do tecido.
2	Catarata: quanto maior a dose, maior a velocidade do estabelecimento do processo; conjuntivite aguda de pouca gravidade.
0,3	Esterilidade temporária do homem.
5	Esterilidade definitiva do homem.
3	Esterilidade temporária da mulher.
6-8	Esterilidade definitiva da mulher.

Figura 1 - Exposições agudas localizadas e toxicidade.

Fonte: Comissão Nacional de Energia Nuclear (BRASIL, 2013, p. 33).

A natureza, gravidade e duração dependem dos órgãos que receberam a radiação, do tipo de tratamento e do paciente, sendo, na maioria das vezes, previsíveis e esperadas.

De acordo com a Comissão Nacional de Energia Nuclear (BRASIL, 2013), lesões de pele apresentam tempo de latência de, aproximadamente, 10 dias e ocorrem em situações de exposições localizadas, como apresentado na Figura 2.

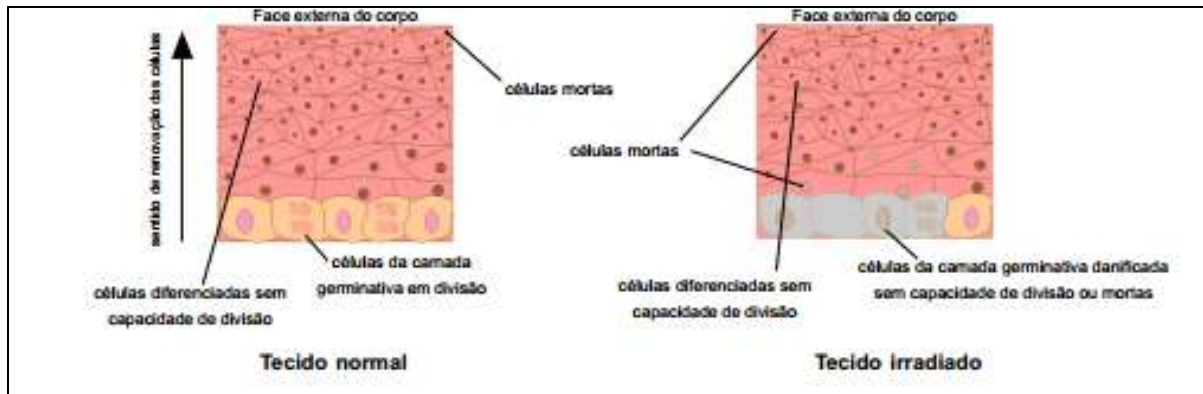


Figura 2 - Efeitos das radiações ionizantes sobre as camadas da pele.

Fonte: BRASIL, 2013, p. 30.

As células da camada mais interna que sofrem a ação de radiações ionizantes (Figura 3), visto que a camada mais externa é constituída de células diferenciadas que perderam a capacidade de se reproduzir. O tempo de trânsito das células das camadas mais internas para a externa (*turnover*) é o fator que mais influencia o surgimento destas lesões após a exposição.

Este tipo de lesão não possui tratamentos úteis ou marcadores preditivos até o momento. Tais complicações cutâneas também dependem da espessura da epiderme, do rompimento da integridade cutânea, comorbidades associadas, exposição ao sol, hábito de fumar, localização da irradiação, campo tratado, volume irradiado e dose, além do tipo de fracionamento e energia utilizada (ANDRADE et al., 2012).

Uma das formas de graduação da toxicidade cutânea relacionada à radiação está representada na Figura 3

Evento Adverso	GRAU				
	0	1	2	3	4
Dermatite por radiação	nenhum	eritema fraco ou descamação seca	eritema de moderado a vigoroso ou uma descamação úmida local, principalmente confinada a dobras e pregas cutâneas;	descamação úmida confluenta de $\geq 1,5$ cm de diâmetro e não confinada às dobras cutâneas; edema desprezível	Necrose cutânea ou ulceração de toda a espessura da derme, pode incluir sangramento não induzido por trauma menor ou abrasão

Nota: Dor associada a dermatite por radiação é classificada separadamente na categoria DOR, como dor devida a radiação

Figura 3 – Critérios Comuns de Toxicidade relacionados à dermatite por radiação.

Fonte: Saad et al., 2002, p. 68-9.

As lesões de **Grau I** são geralmente tratadas como queimadura solar, com produtos emolientes simples que não contenham metal; as de **Grau II**, além de se beneficiarem com emolientes, podem receber soluções antiinflamatórias. Nos **Graus III e IV** considera-se o uso

de filmes de poliuretanos e/ou curativos com hidrocoloides, atendendo aos princípios dos tratamentos de outras feridas.

Para Firmino (2007), a radiodermite não é considerada uma lesão propriamente dita, mas uma reação da pele à radioterapia, semelhante a uma queimadura superficial, onde podem estar presentes, ou não, áreas de ulceração. Já para a Comissão Nacional de Energia Nuclear - CNEN são classificadas como lesão e o tempo para o surgimento independe da energia transferida.

Também não existe consenso para o tratamento destas lesões e as intervenções estão baseadas na extensão do dano tecidual e nos protocolos institucionais (FIRMINO, 2007).

Alguns institutos adotaram produtos ou curativos que aplicados na área irradiada visam a impedir o aumento do grau de radiodermatite, reduzindo o desconforto ao cliente e o tempo de interrupção do tratamento radioterápico. Este tratamento tópico implica em compressa de água e chá de camomila, loção à base de ácidos graxos essenciais (AGE), *Aloe vera* e, no caso de lesões nos graus 3 e 4, uma necessidade da atuação efetiva do enfermeiro com aplicação de placa de hidrocolóide, sulfadiazina de prata a 1%, ácidos graxos essenciais (AGE) e alginato de cálcio que necessitam da elaboração de estudos estruturados para avaliação da sua efetividade no tratamento de radiodermatite (BLECHA; GUEDES, 2006, p.161).

Blecha e Guedes (2006) identificaram numa revisão da literatura que não há relatos de frequência de uso de um produto que possa ser recomendado na prática assistencial para prevenção e tratamento de radiodermites e que a maioria dos produtos identificados nos trabalhos não está disponível no Brasil.

Ainda sobre a prevenção de radiodermite em mulheres com câncer de mama, os produtos tópicos mais indicados são os corticosteroides tópicos, a calêndula e o MAS065D (*Xclair*), com aplicação uniforme, concomitante ao início do tratamento radioterápico, duas vezes ao dia ou mais, dependendo da ocorrência da dermatite e de dor, até completar o tratamento ou seguindo por duas semanas após seu término (ANDRADE et al., 2012). Entretanto, destacam:

“que estudos com melhor delineamento metodológico são necessários para comprovar ou refutar os achados desses estudos. Além disso, a ausência de artigos publicados no Brasil sugere a necessidade de pesquisas nessa área, com o objetivo de elaborar protocolos de cuidados relacionados à prevenção e ao manejo adequado das lesões, que possam ser seguidos por instituições que buscam melhor qualidade na assistência” (ANDRADE et al., 2012, p. 610).

Outra revisão sistemática que avaliou os cuidados com a pele e produtos que os pacientes utilizaram durante a radioterapia radical para câncer de mama, aponta que dos dez estudos selecionados, dois tratavam de regimes de lavar roupa, dois usaram desodorantes e os outros seis investigaram cremes, géis ou soluções. Os resultados sugerem que há um lugar para cremes na gestão e no retardo do aparecimento da toxicidade cutânea induzida pela radiação, no entanto, a investigação falha ao destacar um produto que tenha um demonstrável benefício em detrimento de outros (BUTCHER; WILLIAMSON, 2011).

Cabe, por ora, rever estes conceitos relacionados ao maior órgão do corpo humano, a pele, e ao processo de reparo tecidual.

1.3. Pele e processo de reparo tecidual

A pele, uma barreira protetora entre o organismo e o ambiente externo, destaca-se na proteção contra radiação ultravioleta - UV, danos químicos, microbiológicos, termorregulação, além de ser sensível a estímulos sensoriais, tais como dor e tato (CONTRI et al., 2011). É constituída pela epiderme, derme e pelo tecido subcutâneo, onde uma diversidade de células se dispõe em um sistema de arranjo complexo, conforme representação esquemática na Figura 4.

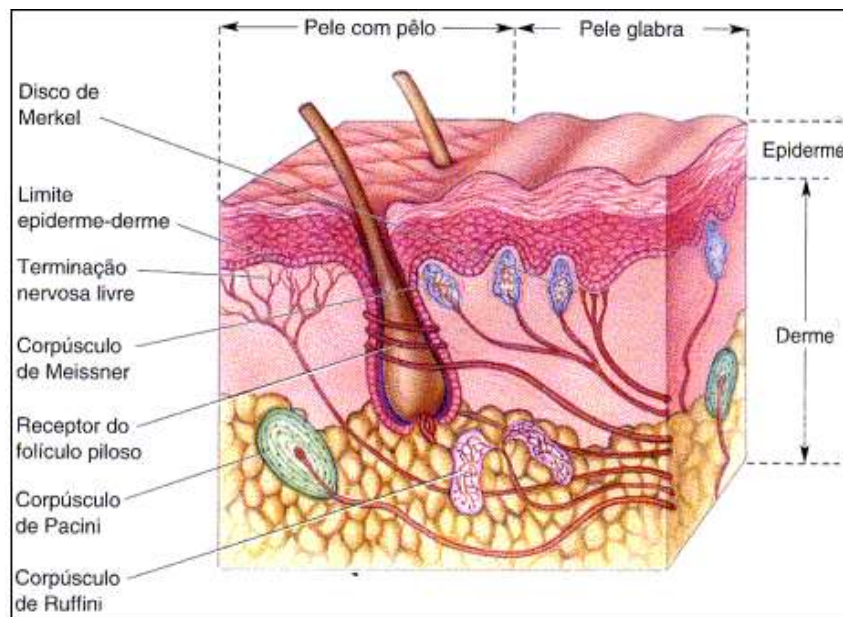


Figura 4 – Estruturas da pele.

Fonte: Bear; Connors; Paradiso, 2002, p.104.

Mais externamente, a epiderme é composta por lipídios, entre eles os fosfolipídios, fosfatidilcolina, colesterol e triglicérides, interagindo com queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células Merkel, principalmente. A constante renovação das células epidérmicas ocorre sempre da camada mais interna para a externa e, à medida que envelhecem, vão tornando-se achatadas, passando a fabricar e a acumular no seu interior uma proteína resistente e impermeável denominada queratina. As células mais superficiais, ao tornarem-se repletas de queratina, morrem e passam a constituir um revestimento resistente ao atrito e altamente impermeável à água, denominado camada queratinizada ou córnea. Esta camada ou estrato é formado por corneócitos queratinizados incorporados em bicamadas lipídicas, com marcada lipofilicidade e alta coesão celular. Extracelularmente, ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres são predominantes, sendo as ceramidas os componentes mais importantes na função “barreira” (CONTRI et al., 2011). Ainda na epiderme são encontradas células denominadas melanócitos, responsáveis pela produção de melanina, o pigmento escuro que contribui para a coloração final da pele e dos pelos.

O estrato córneo é a camada que limita o processo de penetração de substâncias por via tópica, agindo como uma barreira de difusão passiva. A integridade desta camada córnea e a concentração da droga administrada são aspectos que influenciam o perfil de penetração (CHORILLI et al., 2007; SILVA et al., 2009).

Todavia, existem algumas vias passivas pelas quais uma molécula pode atravessar o estrato córneo (Figura 5): intercelular, através da solubilização dos lipídios extracelulares; transcelular, através dos corneócitos e bicamada lipídica; outra que envolve as glândulas sudoríparas ou folículos pilosos. Por ocuparem cerca de 0,1% da superfície da pele, os apêndices contribuem de modo pouco significativo; as glândulas sudoríparas, dada à via tortuosa e trajeto ascendente do suor, não são uma via comum para os medicamentos (CHORILLI et al., 2007; SILVA et al., 2009).

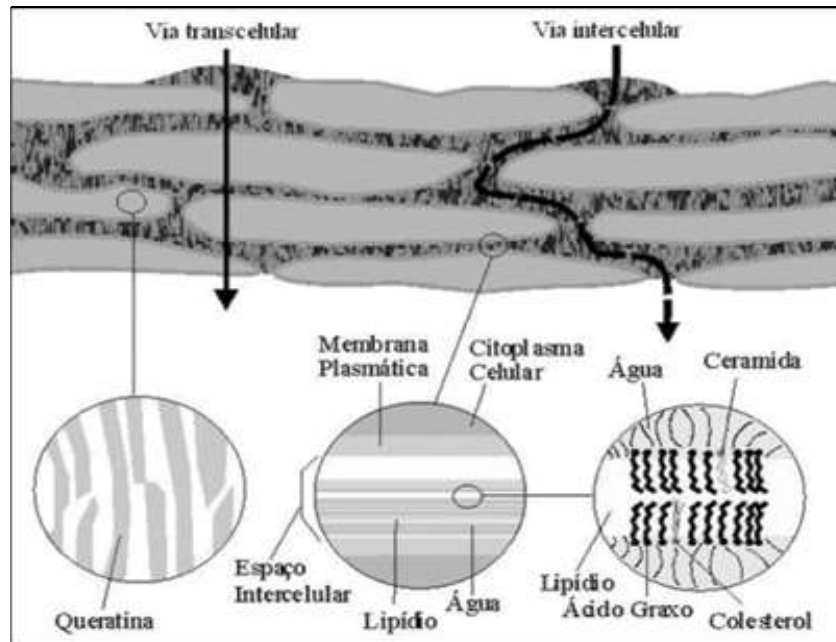


Figura 5 – Vias de transporte de fármacos pelo estrato córneo.
Fonte: Moser et al., 2001, p.389.

Já a derme situa-se abaixo da epiderme, sendo um tecido conjuntivo que contém fibras proteicas, vasos sanguíneos, terminações nervosas, órgãos sensoriais e glândulas. As principais células da derme são os fibroblastos, responsáveis pela produção de componentes fibrilares (colágeno e elastina) e não fibrilares (glicoproteínas e proteoglicanos) da matriz extracelular. Estas células são responsáveis pela formação e remodelação dos tecidos, participando ativamente do processo de cicatrização (MORAES; JOAZEIRO, 2005). Os fibroblastos, além de sintetizarem os complexos macromoleculares da matriz extracelular - MEC interagem com esta matriz, regulando suas deposições e orientação, modulando a estrutura, fisiologia e biomecânica dos tecidos conjuntivos, bem como dos demais, aos quais serve de suporte (MORAES; JOAZEIRO, 2005).

De acordo com Gabbiani (2003), a atividade contrátil oriunda dos fibroblastos é responsável pelo fechamento das feridas, processo conhecido como contração. Este reparo tecidual é um fenômeno complexo que visa restabelecer a integridade morfológica e funcional do tecido ou órgão lesado, por vias dependentes de uma sequência de interações celulares e moleculares (MARTIN; LEIBOVICH, 2005). É composto por três fases, a inflamatória, a proliferativa e a de remodelagem (CLARK, 1996).

Na fase inflamatória, após o dano tecidual, ocorre o extravasamento sanguíneo, agregação plaquetária e a coagulação, com a formação de um tampão rico em fibrina. As plaquetas, sob a ação da trombina, liberam fatores de crescimento e glicoproteínas nesta matriz provisória, necessária para a migração celular (LIN et al., 2003; JONES; EDWARDS;

THOMAS, 2004). Os fatores de crescimento são: fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformante β (TGF- β), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento transformante α (TGF- α) e fator de crescimento de células endoteliais (VEGF). Já as glicoproteínas são a fibronectina e trombospondina (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

A ativação da cascata de coagulação e do sistema do complemento promove o recrutamento de células inflamatórias como os neutrófilos e monócitos responsáveis pela fagocitose. Os monócitos, sob influência do PDGF, transformam-se em macrófagos que promovem a efetivação do processo de reparo, removendo colágeno, elastina e proteoglicanos da matriz extracelular; liberando fatores quimiotáticos e fatores de crescimento. Os fatores de crescimento compreendem o PDGF, TGF- β , fator de crescimento de fibroblasto (FGF) e VEGF, principalmente (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

Na fase seguinte, a proliferativa, ocorre a angiogênese e a migração/proliferação de fibroblastos. Na angiogênese há o aumento da permeabilidade microvascular, sob atuação do VEGF-A, FGF, TGF- β , angiotensina, angiotropina, angiopoetina-1 e, alguns estudos citam que a diminuição da concentração de oxigênio e de ácido láctico são fatores que também influenciam nesta fase. Já os fibroblastos são responsáveis pela produção de uma nova matriz extracelular (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

Na pele, os queratinócitos sofrem estímulos mitogênicos e quimiotáticos do TGF- α e do EGF, fase denominada de proliferação epitelial e a concomitante formação do tecido de granulação. Para a migração de células epiteliais e neovascularização, células e citocinas estão envolvidas, além da produção e organização de componentes da matriz extracelular como fibronectina, colágeno, vibronectina, tenascina e laminina, moduladas pelo FGF₂ e TGF- β .

Já na fase de remodelagem, ocorre a maturação dos elementos e alteração desta matriz extracelular, com depósito de colágeno e de proteoglicanos. Os fibroblastos do tecido de granulação transformam-se em miofibroblastos, comportando-se como um tecido contrátil. Ocorre o desaparecimento da maioria dos vasos, fibroblastos e células inflamatórias por mecanismos de emigração ou morte celular e as citocinas envolvidas são fator de necrose tumoral α (FNT- α), interleucina 1 (IL-1), PDGF e TGF- β .

Na reepitelização há a migração e proliferação de queratinócitos estimuladas pelo fator de proliferação do queratinócito (KGF₇), a proliferação de fibroblastos pelo PDGF e a migração de células epiteliais pelo TGF- β , formação de integrinas e de metaloproteínas, que

promovem a interação com proteínas da matriz extracelular e a degradação/modificação destas proteínas, respectivamente.

Para o processo de reparo, o tipo de pele, a localização anatômica da lesão, a idade do paciente (JULÍA et al., 1992), o estado nutricional, possíveis alterações cardiocirculatórias e na cascata de coagulação, bem como o uso de fármacos por via sistêmica e ressecamento do leito da ferida (MANDELBAUM et al., 2003) são fatores que influenciam.

Devido às características anatômicas e fisiológicas da pele, algumas substâncias podem não obter a atividade desejada por via tópica e novos sistemas carreadores de medicamentos vem sendo utilizados para modificar a permeação/penetração. O tamanho destes carreadores depende da rota de administração do fármaco e pode ser da ordem de milímetros a nanômetros.

Portanto, serão apresentadas a seguir tanto a substância selecionada para este estudo, a *Curcuma longa* Linn, planta da qual são extraídos os curcuminoides, substâncias que participam de inúmeros processos biológicos, dentre eles a cicatrização de lesões; como também o sistema carreador para sua administração.

1.4. *Curcuma longa* Linn

É uma planta da família do gengibre (Zingiberaceae), conhecida internacionalmente como Turmeric (Figura 6). A sinonímia é *Amomum curcuma* Jacq e seus nomes populares são cúrcuma, açafroa e açafão da terra (ANVISA, 2010). De acordo com a Farmacopeia Brasileira, a curcumina, um dos curcuminóides presentes nesta planta, tem indicação terapêutica em dispepsia e inflamação (ANVISA, 2011).



Figura 6 – Ilustração da flor de *Curcuma longa* Linn.

Fonte: <http://pickmeyard.wordpress.com/tag/picture-of-turmeric-flower/>.

De acordo com Govindarajan (1980) e Takahashi (1987) os curcuminoides podem ser encontrados na proporção de 2,8 a 8% e divididos em três substâncias: I - curcumina (1,7-bis-(4 hidroxí3-metoxifenil)-heptadien-3,5-diona; II – demethoxi-curcumina e III – bis-demethoxi-curcumina, sendo que a primeira tem o maior potencial antiinflamatório.

Segundo Yallapu, Jaggi e Chauhan (2012), um fator que limita a sua utilização é a baixa solubilidade em água (0,4 ng/ml em pH 7,3). Quando administrada por via oral em seres humanos, 10 a 12 g/ml de curcumina promovem níveis séricos de aproximadamente 50 ng/ml, denotando uma concentração mínima circulante para atingir os seus efeitos terapêuticos.

Trata-se de uma substância instável em pH > 7 (TONNENSEN; KARLSEN, 1985) e sua maior estabilidade está entre uma faixa de 4 e 7 (RUSIG; MARTINS, 1992). Quando submetida à temperatura de até 100°C não ocorre degradação significativa, sendo que a luz é o fator de maior significância sobre a sua degradação. Sofre uma perda de 30% após 30 dias de exposição à luz e, 1,8% pela ação exclusiva do oxigênio. Quando administrada por via oral, a curcumina sofre rápida metabolização, sendo que 75% é excretada nas fezes e praticamente nada pela urina (WALHSTROM; BLENNOW, 1978).

Na última década, a curcumina, um componente extraído da *Curcuma longa* sp, que participa de uma intrincada rede de sinalizações moleculares (AGGARWAL; HARIKUMAR,

2009) de importância clínica (DAS; KASOJU; BORA, 2010; GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008; IRVING et al., 2011; THANGAPAZHAM; SHARMA; MAHESHWARI, 2006; WRIGHT; SPENCER; FLOWERS, 2006) ganhou expressão. Atribuindo-se a essa molécula atividade antiinflamatória (CHENG et al., 2001), antifúngica (LUTOMSKI; KEDZIA; DEBSKA, 1974; COWAN, 1999), antimicrobiana (BHAVANI-SHANKAR; MURTHY, 1979), antioxidante (FUJISAWA et al., 2004; AUGUSTYNIAK et al., 2010) e antiproliferativa (DAVIE; SPENCER, 1999; LU et al., 1993). Apesar da sua utilização popular e pouca toxicidade (JAYAPRAKASHA, RAO, SAKARIAH, 2006) possui baixa biodisponibilidade (WALHSTROM; BLENNOW, 1978), fator que contribuíram para sua utilização em pesquisas com novos sistemas carreadores (NAIR et al., 2010).

Em uma revisão de quase 1500 artigos com curcumina, concluiu-se que é uma substância não-tóxica, com propriedades antioxidante, inibidora de mediadores da inflamação como o fator nuclear kappa B (NF - kappaB), ciclo-oxigenase-2 (COX-2), lipoxigenase (LOX), e indutíveis do óxido nítrico sintetase (iNOS). Seus efeitos preventivos e curativos têm sido observados em modelos animais de doenças como a aterosclerose, câncer, diabetes, doenças intestinais, gástrica, neurodegenerativas e oculares, apoiando seu uso clínico, na prevenção e tratamento (BENGMARK, 2006).

A atuação destes elementos vem sendo estudada em muitas vias de sinalização celular e na inflamação, sendo que a curcumina demonstrou inibir a incorporação de ácido araquidônico, a incorporação de prostaglandina E2 e leucotrieno B4, além de aumentar a secreção de 6-ceto PGF1a (JOE; LOKESH, 1997). Age no fator de crescimento de tecido conjuntivo (CTGF), na molécula-1 de adesão endotelial de leucócitos (ELAM-1), no fator de necrose tumoral (TNF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), entre outros (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009), na inibição da secreção de colagenase, elastase, hialuronidase, fosfolipase D, fosfolipase A2, fosfolipase C, NF-kappa B, AP-1, além de reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias como o IL-1beta e IL-8 (JOE; LOKESH, 1997).

Num estudo que avaliou o efeito da piperina sobre a biodisponibilidade da curcumina em voluntários saudáveis. Administrou-se 2g de curcumina (4 cápsulas de 500 mg – via oral) isolada ou em combinação com uma dose de 20 mg/Kg de piperina. Houve um aumento da concentração sérica da curcumina e diminuição da excreção renal, além de ser uma dose bem tolerada isolada ou em combinação com piperina, sendo que esta se mostrou um importante inibidor do metabolismo da curcumina (SHOBA et al., 1998).

Em outro estudo, a curcumina na dose de 20 µg/Kg foi administrada por seis dias consecutivos em ratos com caquexia devido ao hepatoma de Yoshida, nos quais se verificou uma redução de 31% do tamanho do tumor hepático (BUSQUETS et al., 2001).

Em 2009, um estudo controlado envolvendo ratos Wistar albinos submetidos à radiação, avaliou o efeito radioprotetor da curcumina sobre a mucosa intestinal. Os animais foram divididos em 5 grupos: grupo A controle; grupo B com dose simples de radiação; grupo C com duas doses de radiação (4 dias de intervalo entre elas); grupos D (radiação no D14 – 5 Gy) e E (radiação duas doses, uma no D10 e outra no D14) concomitante a curcumina (100 mg/Kg) por 14 ou 18 dias, respectivamente (AKPOLAT; KANTER; UZAL, 2009).

Num outro estudo randomizado e controlado com ratos submetidos à queimadura cutânea, avaliou-se uma zona central de necrose, circundada por uma de isquemia que evolui para necrose em poucos dias, devido aos radicais reativos de oxigênio. A curcumina oral antes da queimadura, 24, 48 e 72 horas após proporcionou redução das áreas de evolução para necrose (SINGER et al., 2007).

A farmacocinética da curcumina na dose escalonada entre 440 e 2200 mg/Kg, em 15 pacientes com câncer colorretal avançado e refratário ao tratamento convencional, foi avaliada num estudo de fase 1. Em quatro meses de tratamento o uso oral da curcumina foi bem tolerado, não houve toxicidade na dosagem máxima e as imagens revelaram estabilização da doença em cinco pacientes, no período de dois a quatro meses de tratamento (SHARMA et al., 2001).

Já num estudo de fase II, a ingestão do extrato contendo curcumina, em 15 pacientes com câncer colorretal avançado, provocou inibição da formação do PGE2 de uma forma dose dependente, entretanto, sem diferença significativa comparado com o valor pré-tratamento (PLUMMER et al., 2001). Porém, não utilizou a piperina para aumentar a biodisponibilidade da curcumina, o que pode ter interferido no resultado final.

A curcumina é utilizada como corante (Figura 7) na indústria alimentícia (ASSIS et al., 2012), uma propriedade ainda não apontada neste projeto. Esta propriedade, bem vinda para os alimentos, foi um fator de preocupação inicial na idealização deste projeto. A intenção era explorar o potencial antiinflamatório dos curcuminoides, sem mascarar a observação do processo inflamatório local, que tem como característica cardinal o eritema; além de poder prejudicar a adesão do paciente ao tratamento pela possibilidade de provocar manchas (pele e tecidos).



Figura 7 – Rizoma de *Cúrcuma longa* Linn.

Fonte: <http://thehealingherbsofindia.blogspot.com/search/label/Curcuma%20longa>

Uma solução apontada para esta característica foi o encapsulamento que poderia diminuir o efeito indesejável que é a pigmentação da pele na apresentação tópica. No intuito de manter as atividades farmacológicas destes curcuminoides, melhorar a biodisponibilidade e protegê-los da degradação e do metabolismo, novos sistemas carreadores desenvolvidos serão apresentados na sequência.

1.5. Sistemas carreadores cutâneos de curcumina

Segundo Mehnert e Mader (2001), está ficando evidente que o desenvolvimento de uma droga isolada não é mais suficiente para a evolução da terapia, dada a concentração insuficiente do fármaco em virtude da baixa absorção, rápido metabolismo e eliminação; alta toxicidade em combinação com outros tecidos e a alta flutuação dos níveis plasmáticos devido à imprevisível biodisponibilidade, após administração perioral.

Neste sentido, novos sistemas de transporte de fármaco podem promover o aumento da permeação de fármacos através da pele e os sistemas mais estudados são as microemulsões, nanoemulsões e nanopartículas (ZHAO; BROWN; JONES, 2009) associados ou não aos métodos físicos como iontoforese, microagulhas e microdermoabrasão (KAUSHIK et al., 2001; PRAUSNITZ, 2004; GILL et al., 2009).

Microemulsão é definida como uma dispersão transparente, fluida, opticamente isotrópica e termodinamicamente estável de dois líquidos imiscíveis, contendo quantidades apropriadas de surfactante e, algumas vezes, também um co-surfactante (KAWACHI, 2002). Para Danielsson e Lindman (1981), microemulsões são sistemas de água, óleo e moléculas anfifílicas que formam uma única dispersão líquida, termodinamicamente estável e opticamente isotrópica.

Já as nanoemulsões são dispersões nas quais os tamanhos das gotas dispersas são da ordem de nanômetros, na qual a faixa está compreendida entre 10 e 100 nm, tamanho este que lhes confere maior estabilidade (MASON et al., 2006).

E nanopartículas, secunda definição da *International Organization for Standardization* (ISO) (BRASIL, 2009), é um pequeno pedaço de matéria com as bordas/interfaces definidas, que pode se mover como uma unidade.

Nanopartículas baseadas em sistemas lipídicos são comumente utilizadas em aplicações tópicas, segundo (CONTRI et al., 2011). São estruturas preparadas com lipídeos sólidos em temperatura ambiente ou na temperatura corporal, associados a agentes tensoativos e água. O esquema clássico destas partículas está representado na Figura 8.

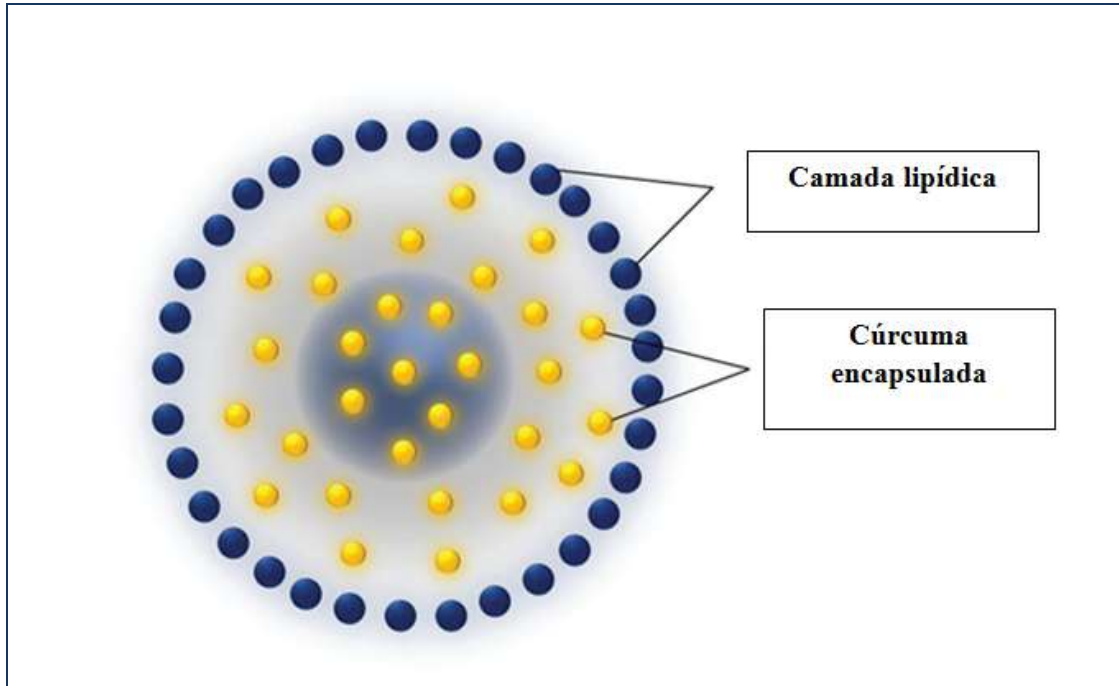


Figura 8 – Ilustração geral de uma típica nanopartícula lipídica sólida.

Fonte: Adaptação de Flora, Gupta e Tiwari, (2013), p. 343.

Segundo Oliveira (2008), fármacos lipofílicos terão uma penetração facilitada, dadas às características da membrana plasmática. Neste sentido, agentes promotores de permeação cutânea podem ser utilizados nas formulações, podendo diminuir a resistência da pele (MARTINS; VEIGA, 2002).

Em contrapartida, a estabilidade destes sistemas de liberação ainda é um desafio a ser vencido. Neste cenário, os compostos sintéticos para encapsular e/ou melhorar a estabilidade destas formulações têm gerado preocupação, tanto pela sua toxicidade direta quanto pelos seus produtos de degradação.

A literatura registra vários trabalhos sugerindo a viabilidade tecnológica e destaca a importância biofarmacêutica de se obter curcumina na forma micro ou nanoestruturada. Cabe, contudo examinar a estabilidade e a toxicidade de micro e nanoestruturas carreadoras da curcumina nestes estudos.

Alguns achados merecem destaque, dentre eles estabilidade à luz, à temperatura e a toxicidade dos sistemas carreadores, bem como dos componentes das formulações.

Estudos de estabilidade à luz

A luz é a maior responsável pela degradação dos curcuminoides. A curcumina livre é mais suscetível à degradação do que a micro e nanoencapsulada. Quando incorporada em formulações tópicas, espera-se que a estabilidade seja aumentada. É recomendação das

agências reguladoras que sejam feitos testes de estabilidade luminosa para substâncias fotossensíveis (ANVISA, 2004).

Aziz, Peh e Tan (2007) avaliaram a estabilidade de curcumina em pó e microencapsulada em gelatina após um período de armazenamento de 30 dias em vidro âmbar, com taxa de exposição à luz de 12h/dia, perfazendo um total de 360h. As amostras foram coletadas em intervalos preestabelecidos (antes da exposição, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias). A taxa de decomposição foi de $0,13 \pm 0,04\%/dia$ e de $0,08 \pm 0,03\%/dia$ para duas amostras diferentes de microcápsulas quando comparadas a curcumina em pó com $0,95 \pm 0,10\%/dia$, demonstrando ganho de estabilidade com $p < 0,05$.

Wang et al. (2009) avaliaram soluções aquosas de curcumina livre e microencapsulada em gelatina e amido poroso antes e após *spray drying* expostas à luz nos dias 1, 4, 6, 8, 12, 16 e 30. As soluções quando expostas a luz não demonstraram alteração na coloração. Entre os dias 1 e 15 os valores da absorbância permaneceram estáveis, porém, entre o dia 15 e 30, a absorbância decaiu 17,4% na curcumina livre, 1,4% na curcumina microencapsulada antes do *spray* e, 0,9% após o *spray drying*.

Paramera, Konteles e Karathanos (2011) utilizando levedura e β -ciclodextrina para encapsular curcumina, expuseram amostra de 200 mg de curcumina pura e microencapsulada à luz solar (12 h/dia por 30 dias - 360 h) em placa de vidro fechada. Nos dias 5, 10, 15, 20, 25 e 30 alíquotas foram coletadas para análise da % de retenção de curcumina e, após 30 dias, a retenção de curcumina não-encapsulada foi de $62,8 \pm 0,21\%$ ($p < 0,05$), menor do que a retenção média da microencapsulada em levedura ($87,2 \pm 0,34$). Os testes mostraram que a fotoproteção foi maior em microcápsulas de leveduras e a microcápsula de β -ciclodextrina não promoveu aumento da estabilidade, tendendo a aumentar a instabilidade.

Lin et al. (2009) armazenaram amostras de microemulsões de curcumina encapsulada em fosfolipídeos no escuro e expuseram à luz (12h/dia – 360 horas). Os resultados evidenciaram que as amostras permaneceram amarelas e transparentes por pelo menos 14 dias a 37°C. Não se observou diferenças significativas na distribuição do tamanho das partículas, bem como na curva de absorbância durante 2 semanas, indicam que a microencapsulação aumentou a estabilidade da curcumina.

Nayak et al. (2010) produziram nanopartículas lipídicas sólidas e, após liofilização, armazenaram na ausência de luz e em temperatura ambiente por seis meses. Os resultados demonstraram estabilidade física e química, a porcentagem de curcuminoides remanescentes esteve entre 88 e 91% e o tamanho das partículas quase não foi alterado.

Mulik, Mahadik e Paradkar (2009) produziram nanopartículas poliméricas de poli-butil cianocrilato e estocaram a 40°C/75% UR, na presença e ausência de luz por 6 meses. A porcentagem de curcuminoides ligados às nanopartículas na ausência de luz permaneceu entre 87 e 93%, enquanto na presença da luz reduziu para 79-89%.

Shelma e Sharma (2011) expuseram curcumina pura e microencapsulada em quitosana lauroil sulfato (LSCS) à luz por 6 horas/dia durante 30 dias. Os resultados mostraram que a concentração de curcumina, determinada em diferentes intervalos de tempo a 425 nm por espectroscopia UV/vis, que a quitosana anfifílica foi capaz de proteger a curcumina da degradação da luz.

Estudos de estabilidade térmica

Os testes de estabilidade térmica são recomendados pelas agências reguladoras, tanto para fármacos quanto para cosméticos. São necessários para saber a temperatura de acondicionamento e o prazo de validade do produto final. A curcumina pode ser estável quando submetida à temperaturas de até 100°C por um período de 30 dias (RUSIG; MARTINS, 1992), entretanto, os componentes de uma determinada formulação podem não ser.

Paramera, Konteles e Karathanos (2011) armazenaram curcumina encapsulada em β -ciclodextrina, levedura e amido modificado e não-encapsulada, durante 30 dias na ausência de luz, em temperatura ambiente (25°C) e com umidade relativa (UR) do ar variando de 32,8% a 90%, em dessecadores com diferentes concentrações de sal. A curcumina não encapsulada mostrou boa estabilidade entre 32,8 e 65,4% de UR, com uma retenção de 85% em 30 dias. Todas as formas de microencapsulação demonstraram aumentar significativamente a estabilidade da curcumina em todas as faixas de UR. As microcapsulas de levedura apresentaram retenção de 93% de curcumina em 30 dias armazenadas na faixa de UR de 32,8% a 65,4%. Acima de 72% de UR o efeito da umidade na oxidação da curcumina pode ser observado. A encapsulação da curcumina em levedura aumentou a estabilidade em 5,5 vezes em UR de 32,8%, 3,9 vezes em UR de 43,2%, 2,9 vezes em 52,9% de UR e 2 vezes acima desta faixa de umidade.

Wang et al. (2009) avaliaram o efeito da temperatura em curcumina livre e microencapsulada antes e após *spray drying*. Soluções contendo as três diferentes apresentações foram submetidas por 10 minutos a diferentes temperaturas (0, 60, 70, 80, 90 e 100°C). Alíquotas das soluções também foram mantidas a 100°C por diferentes períodos de

tempo (10, 20, 30, 40 e 50 minutos). Para as três formas, em temperaturas inferiores a 70°C não houve alteração na estabilidade, porém, acima desta temperatura, a redução da absorvância da curcumina livre foi de 6,2%, enquanto a microencapsulada, antes e após *spray drying*, foi de 1,2 e 0,8%, respectivamente. Quanto submetidas a 100°C, a redução da absorvância da curcumina livre foi de 25,9% e a da microencapsulada antes do *spray drying* foi de 5,9% e após, 2,8%.

Nayak et al. (2010) armazenaram nanopartículas lipídicas liofilizadas em temperatura ambiente por 6 meses. Os resultados mostraram que a estabilidade física, química e a porcentagem de curcuminoides remanescentes estiveram entre 88 e 91%.

Kakkar et al. (2011) mantiveram nanopartículas lipídicas sólidas a $5 \pm 3^\circ\text{C}$ por 1 ano e coletaram amostras nos meses 0, 6 e 12. Após 1 ano não houve aumento significativo no tamanho das partículas e a eficiência de encapsulação decresceu aproximadamente 9% e a quantidade de droga ligada 3%.

Mulik, Mahadik e Paradkar (2009) estocaram nanopartículas poliméricas de poli-butil cianocrilato com curcumina a 40°C/75% UR, na presença e ausência de luz por 6 meses. Após 3 e 6 meses, alíquotas foram avaliadas quanto ao tamanho, PDI e potencial zeta e não apresentaram diferença significativa ($p > 0.001$) nos três momentos de avaliação.

Tsai et al. (2011) armazenaram nanopartículas poliméricas de PLGA em fase aquosa em diferentes temperaturas (temperatura ambiente ou a 4°C). Alíquotas foram avaliadas nos dias 1, 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 23, 25, 27 e 28. Quando armazenadas a 4°C, não houve alteração no tamanho das partículas do dia 1 ao 28, no entanto, comparando com o dia 1, o tamanho das partículas aumentou significativamente no dia 23 (de 158 nm para 172 nm, $p > 0,05$). Quando armazenadas em temperatura ambiente, o diâmetro da partícula aumentou de 158 nm para 194 nm no dia 28 ($p > 0,05$). Além disso, a eficiência de encapsulação não apresentou mudança significativa a 4°C (de 46,1% para 44,8%, $p > 0,05$), entretanto, houve uma significativa diminuição em temperatura ambiente (de 45,9% para 21,3%, $p > 0,05$) no 28º dia em comparação com o dia 1.

Yallapu, Jaggi e Chauhan (2010) demonstraram que nanopartículas poliméricas de poli- β -ciclodextrina são mais estabilidade que a curcumina livre (100% de precipitação) quando submetidas a incubação 37°C sob agitação por 72 horas.

Bhawana et al. (2011) desenvolveram nanopartículas liofilizadas (*freeze-drying*) com boa estabilidade física, química e dispersividade em água, sem decomposição ou agregação após armazenamento em temperatura ambiente por 6 meses.

Zhang et al. (2012) desenvolveram duas formas de lipossoma contendo curcumina, uma convencional e outra feita com propilenoglicol e mantiveram-nas por 30 dias em solução de trealose a 5% em duas diferentes temperaturas (4°C e 25°C). Medições de tamanho de partícula e eficiência de encapsulação foram realizadas nos dias 1, 2, 7, 15 e 30. Abaixo de 25°C, 89,7% da curcumina carregada permaneceu retida em propilenoglicol nos 30 dias, em comparação com 38,5% de curcumina em lipossomas convencionais ($p < 0,05$).

Mohanty et al. (2010) desenvolveram micelas de curcumina encapsulada em metoxi-poli-(etilenoglicol)/poli- ϵ -Caprolactona e deixaram sob agitação a 150 rpm por 6 horas a 37°C. Para testes de estabilidade acelerada, amostras selecionadas de micelas após *freeze-drying* foram mantidas a 30°C/65% UR por 3 meses. Não houve alterações significativas quanto ao tamanho, potencial zeta e capacidade de carga; as partículas permaneceram estáveis.

Sun et al. (2010) produziram exossomal e mantiveram a 37°C por 150 minutos, para comparar com a curcumina livre. Houve degradação rápida da curcumina livre e somente 25% permaneceu após o período de 150 minutos; enquanto a exossomal foi protegida da degradação em mais de 80%.

Estudos de estabilidade ao pH

Já os estudos de estabilidade quando ao pH dão uma informação preciosa quanto à degradação e atividade dos produtos nos meios fisiológicos. São uma ferramenta importante na tomada de decisão quanto à via de administração do fármaco. A curcumina é instável em pH básico (TONNENSEN; KARLSEN, 1985), conforme já foi dito e tem maior estabilidade na faixa de pH de 4 a 7 (RUSIG; MARTINS, 1992).

Wang et al. (2009) testaram o efeito do pH em curcumina livre e microencapsulada em gelatina antes e após *spray drying* através da variação da faixa de pH (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7) com ácido hidrocloreídrico. Quando as soluções eram mantidas entre a faixa de 1-6 de pH a coloração e o brilho eram estáveis. Entre pH 6 e pH 4 a absorbância da curcumina não variou, todavia, entre pH 1 e pH 4, esta foi reduzida. Entre pH 6 e pH 1 a taxa de redução da absorbância da curcumina livre foi de 15,7%, da microencapsulada antes do *spray drying* de 3,3% e após de 2,6%. Assim, o estudo demonstrou que microencapsulação da curcumina melhorou a estabilidade frente à variação de pH.

Lin et al. (2009) coletaram alíquotas de microemulsão e analisaram em determinados períodos de tempo (0, 24 e 48h) quanto à estabilidade em solução tampão (pH 7,4), com

diferentes diluições, protegida da luz e em temperatura ambiente (25°C). Após 48h, a taxa de decréscimo da absorbância de curcumina foi de 7%, 14%, 28% e 29% nas diluições de 20, 60, 120 e 240, respectivamente, mostrando que a diluição interfere na estabilidade das microemulsões.

Mohanty e Sahoo (2010) testaram nanopartículas poliméricas e curcumina livre em solução tampão, sob agitação de 150 rpm a 37°C, por 6 horas. Pode ser observado que a curcumina livre sofreu degradação mais rapidamente e 90% das nanopartículas permaneceram estáveis.

Chen et al. (2009) observaram a estabilidade de curcumina livre e liposomal em sangue total (pH 7,4 a 37°C). Após 180 minutos verificaram que 25% da curcumina livre sofreu degradação e a liposomal não sofreu alteração na estabilidade.

Estudos de toxicidade

Se uma formulação possui um componente tóxico ou mesmo o produto da interação entre os componentes, fica inviável sua administração. Os estudos de toxicidade são essenciais para a segurança e para o estabelecimento da faixa de dose terapêutica, minimizando os efeitos indesejados dos produtos finais.

Poucos estudos apresentaram testes de toxicidade direta e indireta a órgão terminais como coração, fígado, rins, pulmão, baço, estômago e intestinos, além de linhagens celulares (DANDEKAR et al., 2010; NAYAK et al., 2010; PUGLIA et al., 2012; DANDEKAR et al., 2010; CHEN et al., 2009).

Para avaliar toxicidade aguda, 10 ratos foram divididos em dois grupos, um recebeu nanopartículas com curcumina numa dose de segurança equivalente a 2.000 mg/Kg diluída em 5 mL água destilada e o outro, uma dose de nanopartículas sem cúrcuma na mesma concentração. As doses foram administradas por gavagem, a cada duas horas, durante seis horas. Os animais foram monitorados por 48 horas quanto a sinais clínicos de toxicidade e de mortalidade. Adicionalmente, 9 animais em cada grupo foram monitorados por 14 dias para verificação de eventual toxicidade ou mortalidade. Após o período de observação clínica, biópsias dos órgãos foram realizadas. Para a toxicidade subaguda, 5 fêmeas e 5 machos foram subdivididos em quatro grupos: grupo I - controle, com um veículo diluído em água destilada; grupo II com nanopartículas contendo curcumina equivalente a 100 mg/Kg; grupo III com nanopartículas com curcumina na dose de 200 mg/Kg e grupo IV, com nanopartículas brancas na dose equivalente ao grupo III, todas diluídas em água destilada, como no controle. As

doses eram administradas por gavagem, 0,5mL por dia, por um período de 28 dias. Os animais avaliados quanto a sinais clínicos de toxicidade e de mortalidade, mudanças no peso corporal e ingesta alimentar. Ao final dos estudos, foram analisados parâmetros hematológicos como hemoglobina, total de células brancas, total de células vermelhas, proteínas totais, albumina, globulinas, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, ácido úrico, triglicérides, bilirrubinas, cálcio e fósforo, entre outros. Além de necrópsia para avaliação grosseira do coração, fígado, baço, rins, intestino, estômago e, posteriormente, uma avaliação histológica também foi realizada. A formulação não pareceu apresentar toxicidade aguda na dose de 2000 mg/Kg e os estudos de toxicidade subaguda demonstraram a segurança da formulação na dose usual de 100 mg/Kg e na duplicada (200 mg/Kg) para administração prolongada (DANDEKAR et al., 2010).

Curcuminoides ligados a nanopartículas lipídicas sólidas. O controle positivo mostrou 100% de hemólise das células vermelhas sanguíneas. Quando os excipientes foram testados individualmente quanto à hemólise; 8,79% de hemólise foi atribuída à solução aquosa de 4% de poloxamer 188 e 6,58% para a solução aquosa de 3% de Tween 80. Entretanto, o efeito tóxico foi reduzido para 5,23% quando foram testados os mesmos materiais processados como nanopartículas. Estes resultados são atribuídos a mudanças ocorridas nos componentes individuais, ao modo ou grau de interação com os eritrócitos (NAYAK et al., 2010).

Um estudo avaliou a toxicidade motora de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) contendo curcumina. Um teste de roda foi feito durante a administração sistêmica de CLN, determinado a habilidade dos camundongos de suportar o peso corporal. A perda muscular indicaria a relaxamento muscular ou neurotoxicidade da droga. A administração de uma dose de 10 mL/Kg de CLN-Curcumina intraperitoneal não promoveu aumento da função motora e é passível sua administração sistêmica (PUGLIA et al., 2012).

Outro estudo avaliou a toxicidade aguda e subaguda de hidrogel contendo nanopartículas com curcumina em fêmeas de ratos da raça Holtzman. Os animais foram divididos em dois grupos: grupo I recebeu nanopartículas com tendo curcumina a 2000 mg/Kg de peso e grupo II, que recebeu nanopartículas brancas na dose equivalente à administrada ao grupo I, em água destilada. A dose total de 5 mL foi dividida em intervalos de 2 horas, num período de 6 horas e administrada por gavagem. Os animais foram observados por um período de 48 horas quanto a sinais de toxicidade e mortalidade. Adicionalmente, 9 animais por grupo foram monitorados por 14 dias para verificação de eventual toxicidade ou mortalidade. Após o período de observação clínica, biópsias dos

órgãos foram realizadas para observação de alterações patológicas grosseiras. Para a toxicidade subaguda, 10 fêmeas e 10 machos foram subdivididos em quatro grupos: grupo I - controle, com um veículo diluído em água destilada; grupo II com nanopartículas contendo curcumina equivalente a 100 mg/Kg; grupo III com nanopartículas com curcumina na dose de 200 mg/Kg e grupo IV, com nanopartículas brancas na dose equivalente ao grupo III, todas diluídas em água destilada, como no controle. As doses eram administradas por gavagem, 0,5mL por dia, por um período de 28 dias. Os animais avaliados quanto a sinais clínicos de toxicidade, de mortalidade e mudanças no peso corporal. Ao final dos estudos, foram analisados parâmetros hematológicos. Não se observou toxicidade aguda ou subaguda nos estudos *in vivo* e nem alterações significativas de peso; os parâmetros hematológicos, bioquímicos e de órgão terminais também não sofreram alterações significativas e a arquitetura dos órgãos permaneceu normal (DANDEKAR et al., 2010).

Um estudo avaliou a toxicidade de curcumina lipossomal em linfócitos humanos, esplenócitos e em linhagem de células linfoblastoide B. As formulações contendo dimiritoilfosfatidilcolina (DMPC) e dimeristoilfosfatidilglicerol (DMPG) foram tóxicas para as linhagens celulares avaliadas. Entretanto, a adição de colesterol na formulação (DMPC:DMPG:Colesterol) na proporção 7:1:8 (razão molar) eliminou completamente a toxicidade (CHEN et al., 2009).

Considerações sobre os dados extraídos dos estudos

O método de obtenção que promoveu maior fotoestabilidade, segundo resultados obtidos nesta revisão, foi a polimerização aniônica, seguido de evaporação do solvente. Dados de estabilidade apresentados são relativos a seis (6) meses de análise, com coletas nos meses três (3) e seis (6), onde as amostras foram armazenadas a 40°C/75% UR, na presença e ausência de luz. O tamanho das partículas, o índice de polidispersividade e potencial zeta permaneceram estáveis e com indicação de redução de curcuminoides ligados na presença da luz (MULIK; MAHADIK; PARADKAR, 2009). Já a nanoemulsão na produção de nanopartículas lipídicas sólidas, faixa de estabilidade foi bem próxima no período de 6 meses de estudo, entre 88 e 91% (NAYAK et al., 2010). Estes dados corroboram com a literatura, onde polímeros orgânicos são mais estáveis que os lipídeos devido à matriz rígida na sua composição (CONTRI et al., 2011).

Nos testes de estabilidade luminosa, os artigos que apresentaram estudos com exposição à luz de 360h não indicaram a fonte de radiação e, por se tratar de uma molécula fotossensível, uma atenção maior deve ser dada a estes testes (ANVISA, 2004).

Foi possível verificar que o método da microemulsão (ME) para obtenção de nanopartículas lipídicas sólidas também demonstrou boa estabilidade. A microencapsulação tem sido utilizada para proteger componentes fotossensíveis da fotodegradação (TONNENSEN et al, 1986). Os triglicerídeos, os glicerídeos parciais, ácidos gordos, esteroides e ceras são os materiais mais usados na preparação das nanopartículas e a literatura demonstra que a utilização de lipídios fisiológicos diminui danos agudos e crônicos que podem ser causados durante a administração (SERRA et al, 2009).

Como alternativa para melhorar a biodisponibilidade da curcumina, os carreadores poliméricos têm destaque e o mais utilizado, entre os estudos analisados, foi o copolímero poli-L-ácido láctico-co-ácido glicólico (PLGA) (SHAHANI; PANYAM, 2011; XIE et al., 2011; ANAND et al., 2010; CARTIERA et al., 2010; TSAI et al., 2011; EL-SHERBINY; SMYTH, 2012; NAIR et al., 2012; MATHEW et al., 2012; KOPPOLU et al., 2010; DEVADASU; WADSWORTH; KUMAR, 2012; SHAIKH et al., 2009; GHOSH et al., 2012). Outro polímero muito empregado foi a quitosana (DAS; KASOJU; BORA, 2010; SHELMAN; SHARMA, 2011; YADAV et al., 2012; DUAN et al., 2010; EL-SHERBINY; SMYTH, 2012; CHEN et al., 2012; O'TOOLE et al., 2012), uma poliamida catiônica, muita usada como agente de revestimento, desintegrante, aglutinante, agente viscosificante e mucoadesivo.

Nos últimos 10 anos foram produzidas nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC) através de misturas de lipídeos que adquirem um arranjo molecular específico, sofrendo um importante efeito de tensoativos adicionados a estas formulações (SERRA et al., 2009). Esta associação de tensoativos é considerada para melhorar a estabilidade, evitando a aglomeração das partículas e retardando o tempo de transição polimórfica dos lipídeos que encapsulam o princípio ativo (SERRA et al., 2009).

Corroborando com os dados da literatura, o *Tween* 80 foi o adjuvante mais utilizado nos estudos analisados (SHAHANI; PANYAM, 2011; PARIZE et al., 2012; ZHANG et al., 2011; LIN et al., 2009; NAYAK et al., 2010; KAKKAR et al., 2011; PUGLIA et al., 2012; YADAV et al., 2012; ZHANG et al., 2012). O polissorbato (*Tween* 80) é um éster largamente utilizado em farmacotécnica e aplicações bioquímicas; é miscível em água (0,1 mL/mL), com pH de 5,5 a 7,2 em uma solução aquosa de 1%. O *Tween* 80 é um surfactante aniônico

largamente usado em cosméticos, produtos alimentícios e formas farmacêuticas medicamentosas orais, parenterais e tópicas.

Quanto ao tamanho, os estudos revelaram partículas entre 2 nm a 20 μm , demonstrando variabilidade inter e intramétodo de obtenção. É sabido que o método pode influenciar no tamanho das partículas, além dos componentes da formulação e das condições de produção (UNER, 2006).

O potencial zeta das partículas variou de - 50mV a 50mV, também podendo ser em função dos componentes da formulação. Na determinação dos resultados, o valor modular alto (acima de 30 mv) indica que existe maior estabilidade do sistema disperso; já em valores baixos (abaixo de 30 mV), há maior instabilidade, visto que as partículas possuem maior facilidade de aproximação umas das outras (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Observou-se a utilização de equipamentos mais sofisticados durante a produção das partículas como homogeneizadores de alta pressão e liofilizadores. Os primeiros melhoram o índice de polidispersividade (PdI) e tamanho das partículas; já os liofilizadores eliminam a maior parte dos solventes utilizados durante o processo, ação diretamente implicada na estabilidade (SERRA et al., 2009) dos produtos.

Quando se trata do método utilizado para avaliação da estabilidade dos compostos, depara-se com a produção acadêmica, uma fonte rica de estudos no campo da nanociência, onde o rigor estabelecido para a produção industrial, ditado pelas agências nacionais e internacionais de regulação é cumprido parcialmente. Este fato dificulta o julgamento efetivo acerca da estabilidade destes sistemas carreadores. Todavia, estes dados dizem respeito á estabilidade dos pré-produtos e não excluem a necessidade de realização de testes de estabilidade de longo prazo. Os resultados obtidos podem ser considerados dados preliminares e não dizem muito acerca da real estabilidade dos produtos finais.

Chama a atenção o fato de alguns autores pontuarem que as amostras foram deixadas em temperatura ambiente sem apontarem o valor desta ou a umidade relativa do ar, considerando a variação regional. Umidade relativa do ar acima de 75% pode aumentar a degradação devido à mobilidade das moléculas de curcumina através da superfície da matriz capsular, onde pode ser mais susceptível à oxidação.

A hipótese de que o tamanho das nanoestruturas lhes permite entrar facilmente nos tecidos e que esta entrada pode causar danos foi rebatida por estudos recentes que demonstraram que, apesar do tamanho reduzido, estas estruturas não entram livremente em todos os sistemas biológicos. Interações com moléculas funcionais adicionados às suas

superfícies (tensoativos) podem ocorrer, porém não são capazes de entrar no citoplasma, núcleo (CHITHRANI; CHAZANI; CHAN, 2006) ou no cérebro (barreira hematoliquórica). Em geral, a relação entre o tamanho, forma, superfície e a química das nanoestruturas (POWERS et al., 2006) e a sua correlação com a biodistribuição *in vivo* é desconhecida (FISCHER; CHAN, 2007).

As nanopartículas lipídicas podem modificar a sua superfície para serem sítios específicos e assim interagirem no sítio de ação específico (SANTOS et al., 2012). Em alguns casos, há melhora no tempo de meia vida plasmática, o que favorece a circulação e, conseqüentemente, sua atividade (BREUNIG; BAUER; GOEPFERICH, 2008).

Em relação à toxicidades, nos estudos analisados não houve aumento significativo no peso dos animais (DANDEKAR et al., 2010), alterações hematológicas, bioquímicas ou na arquitetura normal dos órgãos (DANDEKAR et al., 2010; NAYAK et al., 2010; PUGLIA et al., 2012; DANDEKAR et al., 2010). Como o cálculo da dose a ser administrada ainda é pauta de discussões, doses equivalentes às comumente administradas por via oral (2000mg/Kg) foram testadas.

A toxicidade destes sistemas parece estar relacionada às moléculas utilizadas na obtenção dos sistemas carreadores, como nos liposomas (CHEN et al., 2009) e não à curcumina. Estes dados corroboram com os de um estudo que avaliou os efeitos da β -ciclodextrina (β CD), um excipiente farmacêutico, e verificou uma proeminente toxicidade quando utilizada em concentrações de até 40% (TACKABERRY et al., 2010). No entanto, uma toxicidade maior é observada quando administrada por via intra-vascular, principalmente nos túbulos renais. Estudos demonstram que a prolongada exposição a altas doses de β CD pode causar danos clinicamente significantes aos túbulos proximais renais. Além disso, existem estudos que indicam potencial carcinogênico, pancreatite e tumores em ratos (TOYODA et al., 1997).

O PLGA é uma substância que sofre degradação por hidrólise, gerando produtos que são absorvidos pelo organismo, como o ácido láctico e o ácido glicólico. Apresenta baixa toxicidade, baixa capacidade alergênica e boa biocompatibilidade (SANTOS JR; WADA, 2007). É considerado um polímero seguro e, por ser biocompatível e biodegradável é escolha primária para muitas formulações em dispositivos injetáveis e implantes tanto para uso humano como veterinário.

Já a quitosana é comumente utilizando em formas farmacêuticas medicinais e cosméticas, no entanto, apesar de ser considerado um material não tóxico, não irritante e

biocompatível, alguns estudos demonstram que este polímero pode causar irritabilidade na pele, olhos e trato respiratório quando inalados (GEBELEIN; DUNN, 1990; GOODAY; JEUNIAUX; MUZZARELLI, 1986; KUMAR, 2000; MAZZARINO et al., 2012).

O tensoativo *Tween* 80 pode promover reações de hipersensibilidade conforme relatos na literatura, principalmente, em estudos pré-clínicos e clínicos (SHELLEY; TALANIN; SHELLEY, 1995; ESCHALIER et al., 1988).

A compreensão da cinética de ligação envolvida nas interações entre nanoestruturas através de estudos que associem técnicas analíticas (CEDERVALL et al., 2007; CEDERVALL et al., 2010) e que vislumbrem alterações de conformação espacial de proteínas adsorvidas à superfície de nanoestrutura, fator que poderia alterar a função das mesmas (YALLAPU; JAGGI; CHAUHAN, 2013; LUNDQVIST; SETHSON; JONSSON, 2004) e o seu destino final, são passos importantes para avaliação efetiva da toxicidade.

Esta revisão contribuiu para verificar que os métodos utilizados realmente promovem mudanças significativas no tamanho e polidispersão das partículas obtidas. Mais do que o princípio ativo, os adjuvantes utilizados na obtenção destas partículas são responsáveis, neste caso da curcumina, pela toxicidade, mesmo sendo ela baixa. Mesmo tendo o conhecimento da toxicidade de alguns carreadores, é possível investir em estudos para reduzi-la, visto que esta área ainda é muito jovem.

Todavia, estudos complementares aos *in vitro* também são necessários (FISCHER; CHAN, 2007), pois a maioria dos estudos nesta área utiliza modelos de cultura de células, sendo os resultados considerados apenas como exploratórios.

Frente ao exposto, considerando que a curcumina possui muitas ações biológicas, que já está sendo alvo de estudo nas mais diversas áreas da saúde; que os enfermeiros têm autonomia para o uso de fitoterápicos em sua prática clínica; que poderia ser uma alternativa razoável em caso de ocorrência de lesões por radiação durante o tratamento de câncer; que a nanotecnologia potencializaria essa aplicação; e que a liberação controlada dos princípios ativos pode contribuir para a redução de efeitos colaterais do produto final e reduzir o número de doses necessárias durante o tratamento, este estudo foi proposto.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

Este projeto tem como objetivo principal desenvolver formulação tópica incorporando nanopartículas contendo curcuminoides como princípio ativo para a prevenção e tratamento de radiodermite.

2.2. Objetivos específicos

- desenvolver nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) como carreadoras de curcuminoides;
- caracterizar as NLS obtidas pelo tamanho, potencial zeta, índice de polidispersividade (PdI), morfologia, eficiência de encapsulação e capacidade de carga;
- desenvolver formulação tópica para incorporar as NLS obtidas;
- avaliar a estabilidade da formulação tópica;
- avaliar a permeação e penetração das NLS *in vitro*;
- avaliar perfil de liberação *in vitro*;

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5. Considerações finais

O objetivo principal deste projeto foi alcançado, no que tange ao desenvolvimento de formulação tópica contendo curcuminoides. As NLS carreadoras de curcuminoides produzidas com cera de abelha foram obtidas com sucesso por um método tradicionalmente utilizado. A cera é um componente barato, quando comparado aos polímeros atualmente empregados na produção de nanopartículas, além de ser um produto natural e menos tóxico, em princípio, aos seres humanos.

A pigmentação cutânea promovida pela curcumina livre foi amenizada pelo encapsulamento, fato que pode mascarar o eritema cutâneo, uma das características cardinais do processo inflamatório inicial.

Foi possível caracterizar as NLS quanto ao tamanho, potencial zeta, PDI, morfologia, eficiência de encapsulação e capacidade de carga. Todavia, os métodos utilizados para a avaliação tanto da eficiência de encapsulação quanto de capacidade de carga foram diferentes e podem ser a resposta para as diferenças encontradas na literatura. Esgotou-se a concentração fora das NLS, sem incorrer no rompimento delas, na tentativa de eliminar qualquer dúvida acerca da adsorção de curcuminoides na face externa das NLS.

Conforme descrito na literatura e o perfil de liberação observado neste estudo, ocorre uma liberação controlada dos curcuminoides; estudo com um tempo de liberação das NLS por um período superior a 12 horas poderia ser investigado. Considerando, também, um teste com a formulação, pois o teste de liberação foi feito somente com a dispersão contendo as NLS.

Contudo, estudos complementares devem ser realizados acerca da toxicidade *in vivo* e de possíveis mudanças na capacidade antioxidante e do potencial antiinflamatório das NLS obtidas. Quanto ao desenvolvimento da formulação tópica, pensando no potencial de incorporação do produto final no tratamento de pacientes com radiodermite, optou-se por uma base já utilizada comercialmente. O fato de se formar uma barreira cutânea pelas NLS, melhorar a hidratação, ter uma liberação controlada e não ter sido quantificado curcuminoides na solução receptora tornou os testes *in vivo* uma alternativa viável,

A formulação tópica indicou ser estável em testes preliminares e pode ser utilizada em estudos posteriores, *in vivo*, para o tratamento de reações inflamatórias locais como a radiodermite.

DIFICULDADES E LIMITAÇÕES DO ESTUDO

6. Dificuldades e limitações do estudo

O maior aprendizado para o desenvolvimento deste estudo foi transpor barreiras do conhecimento e trabalhar diretamente com a interdisciplinaridade de forma transdisciplinar. A busca incessante por novos conhecimentos, tanto teórico quanto práticos, foi gratificante e enriquecedora; consolidou ainda a constatação de que o campo do conhecimento é muito vasto a integração, obedecendo aos potenciais e limites de cada área, é uma condição essencial para o crescimento da ciência.

As dificuldades deste estudo remetem-se em especial a necessidade de busca de habilidades práticas em determinados momentos do desenvolvimento do produto; ao tempo para o desenvolvimento de um produto que envolve tanta tecnologia embutida em todas as suas fases; aos materiais, que por vezes são importados; aos equipamentos que precisam ser desenhados, pensados ou adaptados.

É recomendável que estudos complementares, tanto *in vitro* quanto *in vivo* sejam realizados para poder ser alcançada a etapa de prevenção e tratamento de radiodermites em seres humanos.

***RESULTADOS QUE EXTRAPOLAM O ESCOPO
DESTE ESTUDO***

7. Resultados que extrapolam o escopo deste estudo

- É possível a ampliação da produção através da construção de equipamento que permitam a transposição de escala de fabricação, com produtos finais com características próximas às observadas neste estudo
- É necessário um estudo de viabilidade econômica de produção e de incorporação deste produto, pois se trata de incorporação de substâncias menos tóxicas e de baixo custo.
- Alguns insumos são mais baratos e os efeitos finais são satisfatórios quando comparados a produtos de fabricação mais onerosa.
- Estudos acerca da estabilidade e toxicidade a médio e longo prazo ainda são incipientes.

REFERÊNCIAS

8. Referências¹

AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 1, n. 1, p. 40-59, 2009.

AKAPOLAT, M.; KANTER, M.; UZAL, M. C. Protective effects of curcumin against gamma radiation-induced ileal mucosal damage. **Archives Toxicology**, v. 83, p. 609-617, 2009.

ANAND, P. et al. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, n. 3, p. 330-8, 2010.

ANDRADE, M. et al. Prevenção de reações de pele devido à teleterapia em mulheres com câncer de mama: revisão integrativa. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 20, n.3, p. 604-11, 2012.

ASSIS, L.M. et al. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, jan./mar. 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/bjft/v15n2/aop_0711.pdf. Acesso em: 12 Mai 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10520: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

ATTAMA, A. A.; MULLER-GOYMANN, C. C. Effects of beeswax modification on the lipid matrix of solid lipid nanoparticles crystallinity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 315, n. 1-3, p. 189-195, 2008.

ATTAMA, A. A., SCHICKE, B. C., MÜLLER-GOYMANN, C. C. Further characterization of theobroma oil beeswax admixtures as lipid matrices for improved drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 64, p. 294–306, 2006.

AUGUSTYNIAK, A. et al. Natural and synthetic antioxidants: An updated overview. **Free Radical Research**, v. 44, n. 10, p. 1216–1262, oct. 2010.

AUTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira**/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2011. 126p.

Resolução RE nº 899, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos de 29/05/2003.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. Brasília: FioCruz, 5 ed., v.1, 2010. 545 p. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf. Acesso em 05 Set. 2011.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC Nº 45 que Dispõe sobre a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos**. Brasília: ANVISA, Ago. 2012.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1. ed. Brasília: ANVISA, 2004. 52 p. (Série Qualidade em Cosméticos, 1)

AZIZ, H. A.; PEH, K. K.; TAN, Y. T. F. Solubility of core materials in aqueous polymeric solution effect on microencapsulation of curcumin. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 11, p. 1263-72, 2007.

BHATTACHAR, S.N. et al. The effects of compensation with hydrogenated phospholipids on transport of salicylic acid, diclofenac and indomethacin across snake stratum corneum. **International Journal of Pharmaceutics**, v.79, p.263-271, 1992.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências – Desenhando o sistema nervoso**. 2ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002.

BENGMARK, S. Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NFκB, cyclooxygenase-2, lipooxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: a shield against acute and chronic diseases. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 30, p. 45, 2006.

BISHT, S. et al. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 5, p. 3 2007.

BHAVANI-SANKAR, T. N.; MURTHY, S. Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal and pathogenic bacteria in vitro. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v.17, p. 1363-1366, 1979.

BHAWANA, B. R. K. et al. Curcumin Nanoparticles: preparation, characterization and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 2056-61, 2011.

BLECHA, F. P. E.; GUEDES, M. T. S. Tratamento de radiodermatite no cliente oncológico: subsídios para intervenções de enfermagem. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 2, p. 151-163, 2006.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters**. New York: John Wiley & Sons, 1978 p.

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Environmental management**. The ISO 14000 family of International Standards. 2009. Disponível em: http://www.iso.org/iso/theiso14000family_2009.pdf Acesso em: 07 Mai. 2014.

_____. Comissão Nacional de Energia Nuclear. **Apostila educativa: Radiações ionizantes e a vida**. Disponível em: http://www.cnen.gov.br/ensino/apostilas/rad_ion.pdf. Acesso em: 08 Abr. 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Portaria n.º 212**, de 11 de setembro de 1981. Define o estudo das plantas medicinais como uma das prioridades de investigação em saúde. Diário Oficial da União, Brasília, set. 1981b. Seção 1.

_____. Ministério da Saúde. **Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer, 2011. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/estimativa20122111.pdf>. Acesso em: 05 Set. 2012.

_____. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 92 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde). Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/npic.pdf>. Acesso em 05 Set. 2011.

BREUNIG, M.; BAUER, S.; GOEPFERICH, A. Polymers and nanoparticles: intelligent tools for intracellular targeting? **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 1, p. 112-28, 2008.

BUSQUETS, S. et al. Curcumin, a natural product present in tumeric, decreases tumor growth but does not behave as an anticachectic compound in rat model. **Cancer Letters**, v. 167, n. 1, p. 33-38, 2001.

BUTCHER1, K.; WILLIAMSON, K. Management of erythema and skin preservation; advice for patients receiving radical radiotherapy to the breast: a systematic literature review. **Journal of Radiotherapy in Practice**, p. 1-11, 2011.

CARTIERA, M. S. et al. Partial correction of cystic fibrosis defects with PLGA nanopartículas encapsulating curcumin. **Molecular Pharmaceutics**, v. 7, n. 1, p. 86-93, 2010.

CEDERVALL, T. et al. Detailed identification of plasma proteins adsorbed on copolymer nanoparticles. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, p. 5754-5756, 2007.

CEDERVALL, T. et al. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, p. 2050-2055, 2007.

CEVC, G., VIERL, U.: Nanotechnology and the transdermal route. A state of the art review and critical appraisal. **Journal of Controlled Release**, v. 141, p. 277-299, 2010.

CHEN, C. et al. An in vitro study of liposomal curcumin: stability, toxicity and biological activity in human lymphocytes and Epstein-Barr virus-transformed human B-cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, n. 1-2, p. 133-9, 2009.

CHEN, H. et al. N-trimethyl chitosan chloride-coated liposomes for the oral delivery of curcumin. **Journal of Liposome Research**, v. 22, n. 2, p. 100-9, 2012.

CHENG, A. L. et al. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. **Anticancer Research**, v. 21, n. 4B, p. 2895-2900, 2001.

CHITHRANI, B. D.; GHAZANI, A. A.; CHAN, W. C. W. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. **Nano Letters**, v. 6, p. 662-668, 2006.

CHORILLI, M. et al. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.88, n.1, p.7-13, 2007.

CLARK, R. A. **The molecular and cellular biology repair**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1996.

CONSELHO REGIONAL DE ENFERMAGEM. **Documentos Básicos de Enfermagem: principais resoluções que regulamentam o exercício profissional de Enfermeiros, Técnicos e Auxiliares de Enfermagem**. São Paulo: Escrituras, 2001.

CONTRI, R. V. et al. **Transport of substances and nanoparticles across the skin and in vitro models to evaluate skin permeation and/or penetration**. In: *Nanocosmetics and Nanomedicine: New approaches for skin care*. Berlin: Springer-Verlag, 2011, p.3-36.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, p. 564–582, Oct. 1999.

DANDEKAR, P. et al. Toxicological evaluation of pH-sensitive nanoparticles of curcumin: acute, sub-acute and genotoxicity studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2073-89, 2010.

DANDEKAR, P. et al. Curcumin-loaded hydrogel nanoparticles: application in anti-malarial therapy and toxicological evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 12, p. 4992-5010, 2010.

DANIELSSON, B. LINDMAN. The definition of a microemulsion. **Colloids and Surfaces**, v. 3, p. 391–392, 1981.

DAS, R. K.; KASOJU, N.; BORA, U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 153-60, 2010.

DAVIE, J. R.; SPENCER, V. A. Control of histone modifications. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 75, p. 141–148, 1999. Supplement 32-33.

DEVADASU, V. R.; WADSWORTH, R. M.; KUMAR, M. N. V. R. European Tissue localization of nanoparticles is altered due to hypoxia resulting in poor efficacy of curcumin nanoparticles in pulmonary hypertension. **Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 3, p. 578-84, 2012.

DINGLER, A. et al. Solid lipid nanoparticles (SLNTM/ lipopearls TM) – a pharmaceutical and cosmetic carrier for the application of vitamin E in dermal products. **Journal of Microencapsulation**, v. 16, n. 6, p. 751–767, 1999.

DOKTOROVOVA, S. et al. Cationic solid lipid nanoparticle (cSLN): structure, stability and DNA binding capacity correlation studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 240, n. 2, p. 341-349, 2011.

DOROUD, D. et al. Cationic Solid Lipid Nanoparticles Loaded by Cysteine Proteinase Genes as a Novel Anti-Leishmaniasis DNA Vaccine Delivery System: Characterization and In Vitro Evaluations. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 13, n.3, p. 320 - 335, 2010.

DUAN, J. et al. Synthesis and in vitro/in vivo anti-cancer evaluation of curcumin-loaded chitosan/poly(butyl cyanocrylate) nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 400, n. 1-2, p. 211-20, 2010.

EL-SHERBINY, I. M.; SMYTH, H. D. C. Controlled release pulmonary administration of curcumin using swellable biocompatible microparticles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 2, p. 269-80, 2012.

ESCHALIER, A. et al. Study of histamine release induced by acute administration of antitumor agents in dogs. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 21, p. 246–250, 1988.

FAISANT, N.; SIEPMANN, J.; BENOIT, J. P. PLGA-based microparticles: elucidation of mechanisms and a new, simple mathematical model quantifying drug release. **European Journal Pharmaceutical Science**, v. 15, p. 355–66, 2002.

FIRMINO, F. Potencial terapêutico da fenitoína na cicatrização de radiodermites. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, mar. 2007. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-81452007000100021&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 23 Abr. 2013.

FISCHER, H. C.; CHAN, W. C. W. Nanotoxicity: the growing need for in vivo study. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, p. 565–571, 2007.

FLORA, G.; GUPTA, D.; TIWARI, A. Nanocurcumin: A Promising Therapeutic Advancement over Native Curcumin. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 30, n. 4, p. 331–368, 2013.

FONTANA, G. et al. Preparation, characterization and in vitro antitumoral activity of solid lipid nanoparticles (SLN) containing tamoxifen. **Drug Delivery**, v. 21, n. 16, p. 385-392, 2005.

FREITAS, L. A. P.; NOSARI, A. B. F. L. **Micropartículas e Nanopartículas Lipídicas Sólidas**. 2012. Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020120014483,

data de depósito: 23/01/2012, título: "Micropartículas e Nanopartículas Lipídicas Sólidas" ,
Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Instituição (ões)
financiadora(s): Fapesp.

FUJISAWA, S. et al. Cytotoxicity, ROS-generation Activity and Radical-scavenging Activity of
Curcumin and Related Compounds. **Anticancer Research**, v. 24, p. 563-570, 2004.

GABBIANI, G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. **Journal of
Pathology**, v.200, n.4, p.500-503, 2003.

GASCO, M. R. **Method for producing solid lipid microsphere having a narrow size
distribution**. US Patent 5250236, 1993.

GASCO, M. R.; PATTARINO, F.; LATTANZI, F. Long-acting delivery systems for peptides
reduced plasma testosterone levels in male rats after a single injection. **International Journal
of Pharmaceutics**, v. 62, p. 119-123, 1990.

GASCO, M. R.; PRIANO, L.; ZARA, G. P. Chapter 10 – solid lipid nanoparticles and
microemulsions for drug delivery. CSN, **Progress in Brain Research**, v. 180, p. 181, 2009.

GEBELEIN, C. G.; DUNN, R. L. **Progress in Biomedical Polymers**. New York: Plenum
Press, 1990: 283.

GHADIRI, M. et al. Loading hydrophilic drug in solid lipid media as nanoparticles: statistical
modeling of entrapment efficiency and particle size. **International Journal of Pharmaceutics**,
v.42, n. 1-2, p. 128-137, 2012.

GHOSH, D. et al. Nanocapsulated curcumin: oral chemopreventive formulation against
diethylnitrosamine induced hepatocellular carcinoma in rat. **Chemico-Biological Interactions**,
v. 195, n. 3, p. 206-14, 2012.

GILL, H. S. et al. Selective removal of stratum corneum by microdermabrasion to increase skin
permeability. **European Journal of Pharmeuctic Science**, v. 38, n. 2, p. 95-103, 2009.

GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curecumin”: from
kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, p. 787–809, 2008.

GOODAY, G. W.; JEUNIAUX, C.; MUZZARELLI, R. A. A. **Chitin in Nature and
Technology**. New York: Plenum Press, 1986: 435.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric: chemistry, technology and quality. Boca Raton: Critical Review. **Food Science and Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

GUIMARÃES, K. L.; RÉ, M. I. **Lipid Nanoparticles as Carriers for Cosmetic Ingredients: The First (SLN) and the Second Generation (NLC)**. RUY BECK, R.; GUTERRES, S.; POHLMANN, A. (Eds) In: Nanocosmetics and Nanomedicines. – New Approaches for skin care. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011.

GUTERRES; S.S., ALVES, M.P., POHLMANN, A.R.: Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules for cutaneous applications. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 147–157, 2007.

HARRISON, S. M.; BARRY, B. W.; DUGARD, P. H. Effects of freezing on human skin permeability. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 36, p. 261-262, 1984.

HELGASON, T. et al. Effect of surfactant surface coverage on formation of solid lipid nanoparticles (SLN). **Journal of Colloid and Interface Science**, Oxford, v. 334, n. 1, p. 75-81, 2009.

HU, L. et al. Preparation and Enhanced Oral Bioavailability of Cryptotanshinone-Loaded Solid Lipid Nanoparticles. **American Association of Pharmaceutical Scientists - Pharmaceutical Science Technology**, v. 11, p. 582-587, 2010.

HU, T.; JIANG, J. G. Application of Nanotechnology in Traditional Chinese Medicine. **Current Nanoscience**, v. 8, p. 474-484, 2012.

IGARTUA, M. et al. Development and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with magnetite. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 233, p. 149, .2002.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). **Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95)**, 1995

IRVING, G. R. et al. Curcumin: the potential for efficacy in gastrointestinal diseases. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 25, p. 519–34, 2011.

JAGETIA, G. C.; RAJANIKANT, G. K. Acceleration of wound repair by curcumin in the excision wound of mice exposed to different doses of fractionated γ radiation. **International Wound Journal**, v. 9, n. 1, p. 76-92, 2012.

JAIN, S. K. et al. Solid lipid nanoparticles bearing flurbiprofen for transdermal delivering. **Drug Delivery**, v. 12, p. 207-215, 2005.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. **Food Chemistry**, v. 98, p. 720–724, 2006.

JEBORS, S. et al. Solid lipid nanoparticles (SLNs) derived from para-acyl-calix[9]-arene: preparation and stability. **Journal of Microencapsulation**, v. 27, n. 7, p. 561–571, 2010.

JENNING, V. et al. Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. **Journal of Controlled Release**, v. 66, n. 2-3, p. 115–126, 2000.

JENNING, V. et al. Vitamin A loaded solid lipid nanoparticles for topical use: occlusive properties and drug targeting to the upper skin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 49, n. 3, p. 211–218, 2000.

JENSEN, L. B. et al. Corticosteroid solubility and lipid polarity control release from solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 390, p. 53–60, 2010.

JOE, B.; LOKESH, B. R. Effect of curcumin and capsaicin on arachidonic acid metabolism and lysosomal enzyme secretion by rat peritoneal macrophages. **Lipids**, v. 32, p.1173-1180, 1997.

JONES, S. G., EDWARDS, R., THOMAS, D. W. Inflammation and wound healing: the role of bacteria in the immuno-regulation of wound healing. **International Journal of Low Extremity Wounds**, v. 3, p. 201–8, 2004.

JULÍA, V. et al. Características de la cicatrización de las heridas en el período fetal. **Cirugía Pediátrica**, v.5, n.3, p.117-121, 1992.

KAKKAR, V. et al. Exploring solid lipid nanoparticles to enhance the oral bioavailability of curcumin. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 55, n. 3, p. 495-503, 2011.

KAUSHIK S. et al. Lack of Pain Associated with Microfabricated Microneedles. **Anesthesia & Analgesia**, v. 92, n. 2, p. 502–4, 2001.

KAWACHI, E. Y. **Síntese de nanopartículas de fosfatos de cálcio em ambientes confinados no sistema Renex-100/cicloexano/brine**, Tese de Doutorado, Departamento de físico-química – UNICAMP, 2002.

KHERADMANDNIA, S. et al. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba wax. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 6, p. 753-759, 2010.

KIM, M. K. et al. Targeted and sustained delivery of hydrocortisone to normal and stratum corneum-removed skin without enhanced skin absorption using a liposome gel. **Journal of Controlled Release**, v.40, p.243-251, 1997.

KIM, T. W. et al. The role of non-ionic surfactants on cationic lipid mediated gene transfer. **Journal of Controlled Release**, v 82, p. 455-465, 2002.

KOPPOLU, B. et al. Development of multiple-layer polymeric particles for targeted and controlled drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, n. 2, p. 355-61, 2010.

KÜCHLER, S. et al. Influence of nanocarrier type and size on skin delivery of hydrophilic agents. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 377, p. 169–172, 2009.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, p. 1–27, 2000.

KUO, Y. C.; CHEN, H. H. Entrapment and release of saquinavir using novel cationic solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 365, p. 206-13, 2009.

LIN, C. C. et al. Stability and characterisation of phospholipid-based curcumin-encapsulated microemulsions. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p. 923-8, 2009.

LIN, Z. Q. et al. Essential involvement of IL-6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6-deficient mice. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 73, p. 713–21, 2003.

LU, Y. P. et al. Inhibitory effect of curcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced increase in ornithine decarboxylase mRNA in mouse epidermis. **Carcinogenesis**, v. 14, n. 2, p. 293-297, Febr. 1993.

LUENGO, J. et al. Influence of nanoencapsulation on human skin transport of flufenamic acid. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 19, n. 4, p. 190–197, 2006.

LUO, Y. et al. Solid lipid nanoparticles for enhancing vinpocetine's oral bioavailability. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 53-59, 2006.

LUNDQVIST, M.; SETHSON, I.; JONSSON, B. H. Protein adsorption onto silica nanoparticles: conformational changes depend on the particles' curvature and the protein stability. **Langmuir**, v. 20, p. 10639-10647, 2004.

LUTOMSKI, J.; KEDZIA, B.; DEBSKA, W. Effect of an alcohol extract and of active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. **Planta Médica**, v. 29, p. 9-19, 1974.

MANDELBAUM, S. H. et al. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.4, p.393-410, 2003.

MARENGO, E. et al. Scale up of the preparation process of solid lipid nanosphere. Part I. **International Journal Pharmaceutics**, v. 205, n. 1-2, p. 3-13, 2000.

MARTIN, P.; LEIBOVICH, S.J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. **Trends in Cell Biology**, v.20, n.20, p.599-607, 2005.

MARTINS, M. R. F. M.; VEIGA, F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 38, n. 1, p. 33-54, 2002.

MARTINS, R. M. **Influência de micro e nanopartículas lipídicas sólidas na eficiência de formulações fotoprotetoras bioativas**. 2014. 181f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

MASON, T. G. et al. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 18, R635- R666, 2006.

MATHEW, A. et al. Curcumin Loaded-PLGA Nanoparticles Conjugated with Tet-1 Peptide for Potential Use in Alzheimer's Disease. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, 2012.

MAZZARINO, L. et al. Elaboration of chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 370, p. 58–66, 2012.

MEHNERT, W.; MADER, K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, n. 2-3, p. 165-196, 2001.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257-62, 2009.

MENDOZA, A. E. H. et al. Lipid nanomedicines for anticancer drug therapy. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 5, p. 323-343, 2009.

MOHANTY, C. et al. Curcumin-encapsulated MePEG/PCL diblock copolymeric micelles: a novel controlled delivery vehicle for cancer therapy. **Nanomedicine**, v. 5, n. 3, p. 433-49, 2010.

MOHANTY, C.; SAHOO, S. K. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. **Biomaterials**, v. 31, n. 25, p. 6597-611, 2010.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 6 ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

MORAES, S. G.; JOAZEIRO, P. P. **Fibroblastos**. In: Células: Uma abordagem multidisciplinar. CARVALHO, H. F.;BUZATO, C. B. C (Org). Barueri: Manole, 2005. p. 22-33.

MOSER, K. et al. Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics**, Amsterdam, v.52, n.2, p.103-112, 2001.

MUKHERJEE, S., RAY, S., THAKUR, R.S. Solid lipid nanoparticles (SLN): A Modern Formulation Approach in Drug Delivery System. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, n. 4, p. 349-358, 2009.

MULIK, R.; MAHADIK, K.; PARADKAR, A. Development of curcuminoids loaded poly(butyl) cyanocrylate nanoparticles: physicochemical characterization and stability study. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3-4, p. 395-404, 2009.

MÜLLER, R. H. et al. Cyclosporine-loaded solid lipid nanoparticles (SLN®): Drug lipid physicochemical interactions and characterization of drug incorporation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 3, p. 535-544, 2008.

MÜLLER, R. H.; MADER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 161-177, 2000.

MÜLLER, R. H.; LUCKS, J. S. **Medication vehicles made of solid lipid particles (solid lipid nanospheres - SLN)**. Eur. Patent N° 0605497. Germany, 1996.

NAIR, H. B. et al. Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. **Biochemical Pharmacology**, v.80, p. 1833-43, 2010.

NAIR, K. L. et al. Purely aqueous PLGA nanoparticulate formulations of curcumin exhibit enhanced anticancer activity with dependence on the combination of the carrier. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 425, n. 1-2, p. 44-52, 2012.

NAYAK, A. P. et al. Curcuminoida-loaded lipid nanoparticles: novel approach towards malaria treatment. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, n. 1, p. 263-73, 2010.

OLIVEIRA, A. G. et al. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, Salvador, v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.

OLIVEIRA, R. C. S. **Desenvolvimento, formulação e avaliação de sistemas de libertação transdérmica incorporando sistemas ternários de complexação.** (Fármaco/Ciclodextrina/Polímero). [Tese]. Portugal: Universidade do Porto; 2008.

O'TOOLE, M. G. et al. Curcumin Encapsulation in Submicrometer Spray-Dried Chitosan/Tween 20 Particles. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 8, p. 2309-14, 2012.

PANDEY, R.; SHARMA, S.; KHULLER, G. K. Oral solid lipis nanoparticles-based antitubercular chemotherapy. **Tuberculosis**, v. 85, p. 415-420, 2005.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 892-902, 2011.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, beta-cyclodextrin and modified starch. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 913-22, 2011.

PARIZE, A. L. et al. Evaluation of chitosan microparticles containing curcumin and crosslinked with sodium tripolyphosphate produced by spray drying. **Química Nova**, Salvador, v. 35, n. 6, p. 1127-32, 2012.

PATEL, P. A.; PATRAVALE, V. B. AmbOnp: solid lipid nanoparticles of amphotericin B for oral administration. **Journal Biomedical Nanotechnology**, v. 7, n. 5, p. 632-639, 2011.

PAULUCCI, VP. et al. Optimization of the extraction of curcumin from *Curcuma longa* rhizomes. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.23, n. 1, p. 94-100, Jan./Feb. 2013.

PEDERSEN, N. et al. Solid lipid nanoparticles can effectively bind DNA streptavidin and biotinylated ligands. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n. 62, v. 2, p. 155-162, 2006.

PICTURE OF TURMERIC FLOWER. Disponível em: <http://pickmeyard.wordpress.com/tag/picture-of-turmeric-flower/>. Acesso em: 24 mai 2014.

PLUMMER, S. M. et al. Clinical development of leukocyte cyclooxygenase 2 activity as a systemic biomarker for cancer chemopreventive agents. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 10, p. 1295–1299, 2001.

POWERS, K. W. et al. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part VI: Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. **Toxicology Science**, v. 90, p. 296-303, 2006.

PRAUSNITZ, M. R. Microneedles for transdermal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 5, p. 581–587, 2004.

PUGLIA, C. et al. Curcumin loaded NLC induces histone hypoacetylation in the CNS after intraperitoneal administration in mice. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n 2, p. 288-93, 2012.

RUSIG, O., MARTINS, M.C. Efeito da temperatura, do pH e da luz sobre extratos de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e curcumina. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 158-64.1992.

SAAD, E. D. et al. Critérios Comuns de Toxicidade do Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 1, p. 63-96, 2002.

SANTOS JR., A. R.; WADA, M. L. F. Synthesis, characterization and in vitro degradation of Poly (DL Lactode)/Poly(DL-coGlycolide). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, n. 4, p. 308-317, 2007.

SANTOS, I. S. et al. Nanoencapsulation of polyphenols for protective effect against colon-rectal cancer. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 5, p. 514–523, 2012.

SARTORELLI, P. et al. Percutaneous penetration studies for risk assessment. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 8, p. 133-152, 2000.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 56, n. 3, p. 501-505, 2003.

SERRA, M. L. G. et al. Efecto de los componentes de la formulación en las propiedades de las nanopartículas lipídicas sólidas. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, v. 40, n. 2, p. 26-40, abril-junio, 2009.

SHAHANI, K.; PANYAM, J. Highly Loaded, Sustained-Release Microparticles of Curcumin for Chemoprevention. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 7, p. 2599-609, 2011.

SHAIKH, J. et al. Nanoparticles encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3-4, p. 223-30, 2009.

SHARMA, R. A. et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral Curcuma extract in patients with colorectal cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 7, p. 1894–1900, 2001.

SHELLEY, W. B.; TALANIN, N.; SHELLEY, E. D. Polysorbate 80 hypersensitivity. **Lancet**, v. 345, p. 1312-1313, 1995.

SHELMA, R.; SHARMA, C. P. Submicroparticles composed of amphiphilic chitosan derivative for oral insulin and curcumin release applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 88, n 2, p. 722-8, 2011.

SHOBA, G. et al. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Médica**, v. 64, p. 353–356, 1998.

SILVA, J. A. et al. Estudo de liberação e permeação in vitro do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. **Química Nova**, Salvador, v. 32, n. 6, p. 1389-1393, 2009.

SINGER, A. J. et al. Curcumin reduces burn progression in rats. **Academic Emergency Medicine**, v. 14, n. 12, p. 1125-9, Dec. 2007.

SINHA, V. R. et al. Solid lipid nanoparticles (SLN's) Trends and implications in drug targeting. **International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences**, v. 1, p. 212-238, 2011.

SIVARAMAKRISHANN, R. et al. Glucocorticoid entrapment into lipid carriers – characterization by paraelectric spectroscopy and influence on dermal uptake. *Journal of Controlled Release*, v. 97, n. 3, p. 493-502, 2004.

SOUTO, E. B. et al. Lipid-based nanocarriers for cutaneous administration of pharmaceuticals. **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, p. 479-491, 2011.

SOUZA, A. L. R. **Desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas contendo praziquantel**. 2011. 92f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

SUN, D. et al. A novel nanoparticles drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. **Molecular Therapy**, v. 18, n. 9, p. 1606-14, 2010.

SUWANTONG, O. et al. In vitro biocompatibility of electrospun poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fiber mats. **International Journal Biological Macromolecules**, v.40, n.3, p. 217-223, 2007.

TAKAHASHI, M. Y. **Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões e identidade**. [Monografia]. 2 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1987. 118p.

TAVEIRA, S. F. **Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) como carreadores de fármaco para o tratamento tópico do câncer de pele**. 2009. 149pf Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto 2009.

THACKABERRY, E. A. et al. Comprehensive investigation of Hydroxypropyl Methylcellulose, Propylene Glycol, Polysorbate 80, and Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin for use in general toxicology studies. **Toxicological Science**, v. 117, n. 2, p. 485-492, 2010.

THANGAPAZHAM, R. L.; SHARMA, A.; MAHESHWARI, R. K. Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. **American Association of Pharmaceutical Science**, v. 8, p. E443–9, 2006.

THE HEALING HERBS OF INDIA. Disponível em:
<http://thehealingherbsfindia.blogspot.com/search/label/Curcuma%20longa>. Acesso em: 28 mai 2014.

TONNESEN, H. H., KARLSEN, J. Studies on curcumin and curcuminoids: VI – kinetics of curcumin degradation in aqueous solution. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 180, p. 402–404, 1985.

TONNESEN, M.G., et al. MAC-1-glycoprotein family mediates adherence of neutrophils to endothelial cells stimulated by leukotriene B₄ and platelet activating factor (**Abstract**). *Fed Proc* 45: 379, 1986.

TOYODA, H. et al. Distribution of mRNA for human epiregulin, a differentially expressed member of the epidermal growth factor family. **Biochemical Journal**, v. 326, p. 69-75, 1997.

TSAI, Y. M. et al. Optimised nano-formulation on the bioavailability of hydrophobic polyphenol, curcumin, in freely-moving rats. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 918-25, 2011.

UNER, M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipids nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): their benefits as colloidal drug carrier systems. **Pharmazie**, v. 61, n. 5, p. 375-386, 2006.

UNITED STATES OF AMERICA. Department of Health and Human Services. Code of Federal Regulations. Title 21 - Food and Drugs. Chapter I - Food And Drug Administration, Subchapter B--Food For Human Consumption. Part 184 - Direct Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe. Subpart B--Listing of Specific Substances Affirmed as GRAS Sec. 184.1973. **Beeswax (yellow and white)**. Volume 3, Revised as of April 1, 2013. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1973>. Acesso em: 14 Abr. 2014.

WAHLSTRÖM B, BLENNOW G. A study on the fate of curcumin in the rat. **Acta Pharmacologica et Toxicologica**, v. 43, n. 2, p. 86-92, 1978.

WANG, Y. et al. Study on microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. **European Food Research and Technology**, v. 229, n. 3, p. 391-6, 2009.

WIECHERS, J.; SOUTO, E. B. Solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructures lipid carriers (NLCs) as novel drug delivery system for cosmetic actives. Part I. **Cosmetics and Toiletries**, v. 10, p. 22-30, 2010.

WISSING, S. A.; KAIZER, O.; MULLER, R. H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 9, p. 1257-1272, 2004.

WISSING, S.A., LIPPACHER, A., MÜLLER, R.H.: Investigations on the occlusive properties of solid lipid nanoparticles (SLN). **Journal of Cosmetic Science**, v. 52, n. 5, p. 313–324, 2001.

WISSING, S. A.; KAIZER, O.; MULLER, R. H. Structural characterization of Q10-loaded solid lipid nanoparticles by NMR spectroscopy. **Pharmaceutical Research**, v. 21, p. 400–405, 2004.

WRIGHT, T. I.; SPENCER, J. M.; FLOWERS, F. P. Chemoprevention of nonmelanoma skin cancer. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 54, p. 933–46, 2006.

XIE, X. et al. PLGA Nanoparticles Improve the Oral Bioavailability of Curcumin in Rats: Characterizations and Mechanisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9280-9, 2011.

YADAV, A. et al. Curcumin encapsulated in chitosan nanoparticles: A novel strategy for the treatment of arsenic toxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 199, n. 1, p. 49-61, 2012.

YALLAPU, M. M.; JAGGI, M.; CHAUHAN, S. C. Poly(β -cyclodextrin)/Curcumin self assembly: a novel approach to improve curcumin delivery and its therapeutic efficacy in prostate cancer cells. **Macromolecular Bioscience**, v. 10, n. 10, p. 1141-51, 2010.

Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer. **Drug Discovery Today**, v. 17, n. 1-2, p. 71-80, Jan. 2012.

Curcumin Nanomedicine: A Road to Cancer Therapeutics. **Current Pharmaceutical Desing**, v. 19, n. 11, p. 1994-2010, 2013.

YANG, S. et al. Body distribution of camptothecin solid lipid nanoparticles after oral administration. **Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 751-757, 1999.

YOKOMIZO, Y. Effects of phosphatidylcholine on the percutaneous penetration of drugs the dorsal skin of guinea pigs in vitro; and analysis of the molecular mechanism, using attenuated total reflectance-fourier transform infrared (ATF-FTIR) spectroscopy. **Journal of Controlled Release**, v.42, p. 249-262, 1996.

ZETASIZER NANO - ZS – User Instructions. NBTC User Instructions, 3.0, Jan 4, 2009.

ZHANG, L. et al. Eudragit S100 coated calcium pectinate microspheres of curcumin for colon targeting. **Journal of Microencapsulation**, v. 28, n. 7, p. 659-67, 2011.

ZHANG, L. et al. Physical characterization and cellular uptake of propylene glycol liposomes in vitro. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 38, n. 3, p. 365-71, 2012.

ZHANG, Q. et al. Studies on cyclosporine A loaded stearic acid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 200, n. 2, p. 153-159, 2000.

ZHAO, Y.; BROWN, M. B.; JONES, S. A. Engineering novel topical foams using hydrofluoroalkane emulsions stabilized with pluronic surfactants. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 37, n. 3-4, p. 370-377, 2009.

ZOLNIK, B.S.; BURGESS, D. J. Effect of acidic pH on PLGA microsphere degradation and release. **Journal of Controlled Release**, v. 122, p. 338-44, 2007.