UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento e caracterização de nanodispersão de fase líquido-cristalina
como sistema carreador multifuncional de siRNA TNF- α e triptolida no
tratamento tópico da psoríase**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para
obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e
Cosméticos

Orientado: Ana Vitória Pupo Silvestrini

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Vitória Lopes
Brada Bentley

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação no dia 05/02/2021. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto, SP

2020

RESUMO

SILVESTRINI, A.V.P. **Desenvolvimento e caracterização de nanodispersão de fase líquido-cristalina como sistema carreador multifuncional de siRNA TNF- α e triptolida no tratamento tópico da psoríase.** 2020. 163 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

A psoríase é uma doença inflamatória crônica, que pode acometer a pele, unhas, mucosas e articulações. A sua ocorrência está associada à uma complexa interação entre fatores genéticos, metabólicos, imunológicos e ambientais. O tratamento convencional é baseado na sua gravidade, sendo recomendado o uso de imunossupressores, foto- ou quimiofototerapia e imunobiológicos. No entanto, a terapia a longo prazo é limitada. Neste contexto, a busca de novos agentes terapêuticos é alvo constante de pesquisas e necessária para melhorar as condições clínicas dos pacientes. Desta forma, foi proposto a entrega combinada de dois agentes farmacológicos, triptolida e *small interfering RNA* (siRNA) com alvo o TNF- α , veiculados por nanodispersões líquido-cristalinas (NLCs), que são sistemas que apresentam características vantajosas para a aplicação tópica de fármacos, devido a sua arquitetura ordenada, biocompatibilidade com membranas biológicas, e são passíveis de modificações químicas e físicas, permitindo maior multifuncionalidade. Neste sentido, as NLCs foram produzidas e caracterizadas quanto às suas propriedades físicas, químicas e funcionais *in vitro*. A modificação com poli-(alilamina hidrocloreto) (PAH), agente catiônico, forneceu carga residual positiva ao sistema, permitindo maior interação eletrostática com o siRNA. As partículas apresentaram tamanho hidrodinâmico médio ≤ 160 nm, índice de polidispersão $\leq 0,2$ e uma eficiência de encapsulação $\geq 90\%$. A presença do PAH, triptolida ou siRNA não alteraram a mesoestrutura líquido-cristalina hexagonal. As NLCs apresentaram estabilidade física e química por pelo menos 90 dias armazenadas a 25 °C. Estudos cinéticos mostraram que as NLCs apresentam maior retenção na região da epiderme e derme viável, com uma maior entrega das moléculas ativas quando foi aplicado um hidrogel de hidroxietilcelulose contendo as NLCs. Dados reológicos mostraram que o aumento da viscosidade da formulação melhorou as características pseudoplásticas e o perfil de textura. *In vitro*, a presença do PAH e da triptolida conferiram toxicidade às NLCs, ainda que, os efeitos tóxicos da triptolida foram atenuados com a encapsulação ao sistema. A rápida internalização celular, com taxas acima de 80% em 6 h de tratamento, foi atribuída aos mecanismos de endocitose mediada por caveolina e macropinocitose. Durante o tráfico intracelular, foi observado uma diminuição da localização endo-lisossomal das NLCs após 6 h, resultando em escape endossomal e liberação efetiva de seu conteúdo. Em cultura de monócitos primários humanos a co-entrega de triptolida e siRNA-TNF pelas NLCs mostrou atenuar a produção de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e TGF- β 1, após tratamento concomitante ou com prévia exposição ao lipopolissacarídeo. Face aos resultados obtidos, pode-se concluir que as NLCs multifuncionais desenvolvidas é uma estratégia relevante para a administração tópica desses agentes para o tratamento da psoríase e outras condições cutâneas de ordem inflamatória ou autoimune.

Palavras chaves: nanodispersão líquido-cristalina, psoríase, terapia gênica, triptolida.

ABSTRACT

SILVESTRINI, A.V.P. **Development and characterization of phase liquid-crystalline nanodispersion as a multifunctional carrier system of TNF- α siRNA and triptolide in the topical treatment of psoriasis.** 2020. 163 f. Dissertation (Master). College of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto – University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Psoriasis is a chronic inflammatory disease that can affect the skin, nails, mucous membranes and joints. Its occurrence is associated with a complex interaction between genetic, metabolic, immunological and environmental factors. Conventional treatment is based on its severity, and the use of immunosuppressants, photo- or chemophototherapy and immunobiologicals is recommended. However, long-term therapy is limited. In this context, the search for new therapeutic agents is a constant target for research and necessary to improve the clinical conditions of patients. Thus, it was proposed the combined delivery of two pharmacological agents, triptolide and small interference RNA (siRNA) targeting TNF- α , carried by liquid-crystalline nanodispersions (LCNs), which are systems that have advantageous characteristics for the topical application of drugs, due to their orderly architecture, biocompatibility with biological membranes, and are subject to chemical and physical modifications, allowing greater multifunctionality. In this sense, LCNs were produced and characterized in terms of their physical, chemical and functional properties *in vitro*. The modification with poly(allylamine hydrochloride) (PAH), a cationic agent, provided a positive residual charge to the system, allowing greater electrostatic interaction with the siRNA. The particles had an average hydrodynamic size ≤ 160 nm, polydispersion index ≤ 0.2 and an encapsulation efficiency $\geq 90\%$. The presence of PAH, triptolide or siRNA did not alter the hexagonal liquid-crystalline mesostructure. The LCNs showed physical and chemical stability for at least 90 days stored at 25 °C. Kinetic studies have shown that LCNs have greater retention in the region of the epidermis and viable dermis, with greater release of the active molecules when a hydroxyethylcellulose hydrogel containing NLCs is applied. Rheological data showed that the increased viscosity of the formulation improved the pseudoplastic characteristics and the texture profile. *In vitro*, the presence of PAH and triptolide conferred toxicity to the LCNs, although the toxic effects of triptolide were attenuated with the encapsulation of the system. Rapid cell internalization, with rates above 80% in 6 h of treatment, was attributed to mechanisms of caveolin-mediated endocytosis and macropinocytosis. During intracellular trafficking, a decrease in the endo-lysosomal location of LCNs was observed after 6 h, resulting in endosomal escape and effective release of their content. In culture of primary human monocytes, the co-delivery of triptolide and siRNA-TNF by LCNs has been shown to attenuate the production of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and TGF- β 1, after concomitant treatment or with previous exposure to lipopolysaccharide. In view of the results obtained, it can be concluded that the multifunctional LCNs developed are a relevant strategy for the topical administration of these agents for the treatment of psoriasis and other skin conditions of an inflammatory or autoimmune.

Keywords: liquid-crystalline nanodispersions, psoriasis, gene therapy, triptolide.

1. INTRODUÇÃO

1.1. PSORÍASE

1.1.1. Fisiopatologia da psoríase

A psoríase é uma doença inflamatória cutânea crônica, que pode acometer a pele, unhas, mucosas e articulações (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015; CONRAD; GILLIET, 2018). A sua ocorrência está associada a diversos fatores intrínsecos e extrínsecos, os quais incluem a susceptibilidade genética e desregulações na rede epigenética, estresse físico e psicológico, alterações metabólicas, tabagismo, infecções (estreptocócicas) e alguns medicamentos (por exemplo, lítio, betabloqueadores e anti-inflamatórios não-esteroidais) (WOO; CHO; PARK, 2017; RENDON; SCHÄKEL, 2019; DELIĆ *et al.*, 2020).

Dados epidemiológicos indicam uma prevalência entre 0,5 a 11,4 %, que pode variar de acordo com a região geográfica e idade (MICHALEK; LORING; JOHN, 2017). Embora raramente seja fatal, a psoríase está relacionada a um alto grau de morbidade, com significativo impacto nas condições econômicas e psicossociais dos pacientes (RODRIGUEZ-VALLECILLO; WOODBURY-FARIÑA, 2014), além de importantes manifestações sistêmicas estarem associadas, como artrite psoriática, disfunções cardiovasculares e hepáticas, síndrome metabólica e doença de Crohn (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015).

Clinicamente a psoríase é caracterizada por placas eritematosas e escamosas, isoladas ou extensas, que pode envolver diversas áreas do corpo. Cinco tipos de psoríase são relatados na literatura: (1) psoríase em placas, também conhecida como psoríase vulgar; (2) psoríase gutata (gotícula) ou eruptiva caracterizada por manchas escamosas em forma de “lágrima”; (3) psoríase inversa, também chamada de psoríase intertriginosa ou flexural, encontrada geralmente nas dobras da pele; (4) psoríase pustular, que pode assumir a forma de pustulosa palmoplantar ou psoríase pustular generalizada; e (5) psoríase eritrodérmica, uma complicação rara e muito grave da psoríase (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015; CONRAD; GILLIET, 2018).

Histologicamente, a psoríase tem uma aparência definidora, semelhante entre os subtipos, mas que se distingue de outras doenças inflamatórias (**Figura 1**). É observado um acentuado espessamento da epiderme, devido à hiperplasia dos

queratinócitos na epiderme interfolicular (acantose), acompanhado de projeções descendentes alongadas e finas na derme. As escamas superficiais são devido à diferenciação terminal incompleta dos queratinócitos, principalmente na camada granular epidérmica, característico de hiperqueratose acompanhada de paraqueratose. A intensa infiltração de neutrófilos (microabcessos de *Munro*), leucócitos mononucleares e neoangiogênese com vasos sanguíneos alongados/ hiperplásicos na região dérmica papilar (entre a retina epidérmica) são características comuns nas lesões psoriáticas (WAGNER *et al.*, 2010; BOEHNCKE; SCHÖN, 2015; MAHIL; CAPON; BARKER, 2016).

Figura 1 - Aspectos histológicos da pele normal e psoriática.

Fonte: adaptado de WAGNER *et al.* (2010).

Nas últimas décadas o modelo patogênico da psoríase foi profundamente revisado de acordo com uma compreensão mais ampla e aprofundada dos mecanismos imunológicos associados à formação das placas psoriáticas (NESTLE *et al.*, 2009; OGAWA *et al.*, 2018; YADAV; SINGH; SINGH, 2018), sendo, principalmente, associados às interações desreguladas dos componentes do sistema imunológico inato e adaptativo com as células cutâneas residentes (**Figura 2**). Em particular, o delicado equilíbrio nas interações dos queratinócitos e células do sistema imunológico é perturbado nas lesões cutâneas psoriáticas (MAHIL; CAPON; BARKER, 2016; CHIRICOZZI *et al.*, 2018; KABASHIMA *et al.*, 2019; DELIĆ *et al.*, 2020).

Figura 2 - Imunopatogênese da psoríase.

Fonte: NESTLE *et al.* (2009).

Os primeiros passos da cascata patogênica consistem na ativação de células dendríticas (CDs) plasmacitoides por agonistas de receptores *Toll-like* (TLRs) (por exemplo, chemerina, β -defensinas, peptídeos antimicrobianos e lisozima) e/ou ativação de células T autorreativas. Dentre os agonistas TLRs a formação de complexos de auto-DNA extracelular com o peptídeo LL37 ativa receptores TLR-9 em CDs plasmocitoides, estimulando a liberação de interferon (IFN) do tipo I (altos níveis de IFN- α), que, juntamente com fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-6 e IL-1 β , ativa as CDs mielóides locais, ou ainda, ativa diretamente as CDs mielóides via TLR-7 e -8, o que leva a regulação positiva de TNF- α e IL-6 (MAHIL; CAPON; BARKER, 2016; CHIRICOZZI *et al.*, 2018; SCHÖN, 2019).

As CDs mielóides, produtoras de TNF- α , IL-6, IL-23, IL-20, óxido nítrico e moléculas estimulatórias de células T, migram para os linfonodos drenantes que ativam as células T alogênicas (CHIRICOZZI *et al.*, 2018; PASTOR-FERNÁNDEZ; MARIBLANCA; NAVARRO, 2020). As células T ativadas entram na circulação e se

movem em direção à pele inflamada por meio de interações com moléculas de adesão via expressão de integrinas- $\alpha\beta\gamma$ (incluindo P- e E-selectinas) nas células endoteliais. Além disso, a justaposição de células T e CDs maduras em agregados dérmicos, bem como a expressão de quimiocinas atrativas de linfócitos (CCL-18, CCL-19, CCL-21 e CXCL-12) pode promover a ativação de células T *in situ* (FOTIADOU *et al.*, 2018; OGAWA *et al.*, 2018).

As células T após serem ativadas, diferenciam-se em células T helper (Th) tipo 1 (produtoras de IFN- γ , TNF- α e IL-2) e Th17 (produtoras de IL-17, TNF- α , IL-6 e IL-22) e expressam receptores de quimiocinas (CXCR-3, -4 e -6) e fatores de transcrição (do inglês, *signal transducer and activator of transcription* [STAT]-1 e -3), que contribuem para a migração e sinalização aos sítios de lesão (SCHÖN, 2019; LI *et al.*, 2020a). O IFN- γ , neste estágio inicial, estimula a produção de quimiocinas (por exemplo, CXCL-10, CXCL-11) e a liberação de moléculas de adesão dos queratinócitos, facilitando o recrutamento de linfócitos para os locais inflamatórios, por meio da regulação positiva do supressor da sinalização de citocinas (do inglês, *suppressor of cytokine signaling* [SOCS]-1) (MAHIL; CAPON; BARKER, 2016; SCHÖN, 2019).

Células T $\gamma\delta$, Th22 e Th9, produtoras de quimiocinas e citocinas específicas, são encontradas na pele psoriática em um número substancial e contribuem para o aumento das respostas mediadas pelo eixo IL-23/ IL-17, o qual sustenta o processo inflamatório por meio da ativação de moléculas pró-inflamatórias e pró-proliferativas derivadas das células T, hiperplasia tecidual e neoangiogênese (SCHÖN; ERPENBECK, 2018; JEE *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020a; PASTOR-FERNÁNDEZ; MARIBLANCA; NAVARRO, 2020).

Outras células imunológicas, como neutrófilos e mastócitos infiltram-se na derme e migram para a epiderme sob estímulo quimiotático. Os neutrófilos na epiderme formam os microabscessos de *Munro*, que representam uma das características histopatológicas da doença. A produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-8, -17 e -22), tanto por neutrófilos quanto pelos mastócitos, induz a sobrevivência, recrutamento e ativação dessas células (CHIRICOZZI *et al.*, 2018; OGAWA *et al.*, 2018).

A resposta tecidual mais relevante é fornecida pelos queratinócitos, responsáveis pela ampliação da inflamação por meio da produção de citocinas (IL-1F9, TNF- α , IL-17, IL-19 e linfopoietina do estroma tímico), quimiocinas (CCL20,

CXCL1-3, CXCL8-11), fatores estimulantes da proliferação (EGF e VEGF) e outros mediadores pró-inflamatórios. Esse sinergismo promove também o recrutamento de células Th17, Th22 e CDs (WOO; CHO; PARK, 2017; SCHÖN; ERPENBECK, 2018). Em resposta aos mediadores pró-inflamatórios produzidos por essas células, os queratinócitos são estimulados a intensa expansão e manutenção das placas psoriáticas, por meio da ativação de vias de sinalização (STAT-1 e -3 e NF-kB) e regulação positiva de uma série de genes pró-inflamatórios (CHIRICOZZI *et al.*, 2018; SCHÖN, 2019; YADAV; SINGH; SINGH, 2018).

Embora os queratinócitos sejam considerados as principais células a responderem ao microambiente das citocinas, é notável a contribuição de outras células teciduais no processo. Os melanócitos são responsáveis pela expressão de autoantígenos, como ADAMTSL5, enquanto que os fibroblastos secretam a chemerina e outros componentes pró-inflamatórios, como IL-6 e metaloproteinases. As células endoteliais favorecem a migração de células inflamatórias para os locais lesionados por meio da expressão de moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1, entre outras) (CHIRICOZZI *et al.*, 2018; KABASHIMA *et al.*, 2019).

Em conjunto, esses mecanismos sustentam a teoria de que, na psoríase, existe um circuito de *feedback* positivo entre as células do sistema imunológico e as células epiteliais e endoteliais residentes. Os estudos nesta vertente proporcionaram uma melhor compreensão da patogenecidade e relevância de certos tipos celulares, vias de sinalização na psoríase em comparação com outros distúrbios inflamatórios da pele. Além disso, os novos conhecimentos sobre a imunopatogênese da psoríase levaram a investigações e desenvolvimento de novas terapias mais efetivas, caracterizadas por mecanismos de ação altamente seletivos, visando citocinas e receptores imunológicos (CHIRICOZZI *et al.*, 2018; CONRAD; GILLIET, 2018; PASTOR-FERNÁNDEZ; MARIBLANCA; NAVARRO, 2020).

1.1.2. Tratamentos convencionais e novos agentes terapêuticos

A abordagem terapêutica anti-psoriática é motivada principalmente pela gravidade da doença, e, desta forma, é comumente avaliada pelo uso de ferramentas que determinam o grau e a evolução do tratamento. O método PASI (do inglês, *Psoriasis Area and Severity Index*) em conjunto com os dados de BSA (do inglês, *Body Surface Area*) ou PGA (do inglês, *Physician's Global Assessment*) é o mais empregado clinicamente, embora um novo método tenha sido introduzido, o TLSS (do

inglês, *Target Lesion Severity Score*) (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015; CHIRICOZZI *et al.*, 2017).

O tratamento atual para a psoríase não é curativo; no entanto, há uma gama de opções terapêuticas para o manejo da doença. A doença em um estágio leve pode ser efetivamente tratada com preparações tópicas, enquanto que em condições moderada a grave, os tratamentos podem incluir fototerapia e terapias sistêmicas. A terapia tópica desempenha um papel em todo o espectro de gravidade da doença na psoríase, e na doença moderada e grave, o tratamento tópico pode diminuir a necessidade de tratamento sistêmico e fototerapia (CHIRICOZZI *et al.*, 2017; CONRAD; GILLIET, 2018).

Os corticosteróides e os análogos da vitamina D (calcipotriol e tacalcitol) demonstram efeitos satisfatórios no controle da doença, devido a ação anti-inflamatória e regulação sobre a proliferação e diferenciação dos queratinócitos (DENG *et al.*, 2016). A combinação de ambos também se mostrou efetiva no tratamento de áreas do couro cabeludo afetadas pela psoríase. No entanto, o uso contínuo dos corticosteroides está associado a riscos, como atrofia cutânea, hipopigmentação, taquifilaxia, resistência à terapia e, em casos esporádicos, supressão do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal. Os análogos da vitamina D também não são isentos de efeitos secundários, entre os quais incluem a irritação da pele e hipercalcemia (CASTELA *et al.*, 2012; CHIRICOZZI *et al.*, 2017).

Os inibidores de calcineurina (tacrolimus e pimecrolimus) podem representar uma opção terapêutica no tratamento da psoríase, devido a sua capacidade de suprimir a ativação e proliferação das células T. Diversos estudos relatam a eficácia aumentada do uso de tacrolimus associado a outras terapias e efeitos adversos mínimos em comparação aos corticosteroides e análogos da vitamina D. No entanto, atualmente, apesar de sua utilização *off-label* ser comum na clínica, o seu uso se restringe a pequenas áreas de pele sensível e de difícil tratamento, tais como a face e genitais (MALECIC; YOUNG, 2016; CHIRICOZZI *et al.*, 2017).

Outros tratamentos tópicos disponíveis incluem os retinoides, coaltar e antralina (ditranol). Os retinoides, derivados da vitamina A, constituem uma opção única dentro do arsenal de tratamentos anti psoriáticos, por atuarem na supressão direta da inflamação, bem como a inibição da proliferação e a normalização da diferenciação da camada epidérmica. De forma semelhante aos análogos da vitamina D, a sua eficácia e tolerabilidade são aumentadas quando associados aos corticosteroides

tópicos. Esta associação também inibe o efeito atrofogênico e impede os efeitos de rebote pós-utilização (KHALIL *et al.*, 2017). O coaltar é frequentemente usado como parte do regime de Goeckerman. Constitui uma opção segura e altamente eficaz, e os pacientes permanecem em remissão por mais tempo do que com outros tratamentos tópicos de psoríase (SEKHON *et al.*, 2017). A antralina, por atuar na redução da proliferação de queratinócitos, prevenir a ativação de células T e restaurar a diferenciação celular, demonstrou ao longo dos anos, ser um dos tratamentos tópicos mais eficazes para psoríase (HOLSTEIN *et al.*, 2017).

A terapia sistêmica é indicada para a psoríase moderada a grave e inclui o uso de metotrexato, ciclosporina A, acitretina e, em alguns países, ésteres de ácido fumárico. Esses agentes são indicados, principalmente, pelos efeitos imunossupressores. No entanto, a aplicação a longo prazo é limitada, principalmente pela tolerância e toxicidade cumulativa. Com o monitoramento adequado, todos, exceto a ciclosporina A, que geralmente é aplicada em curto prazo, podem ser usados para a terapia de manutenção da psoríase (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015). Além disso, nos últimos anos foi aprovado o apremilast, um inibidor seletivo da fosfodiesterase 4, como alternativa no tratamento sistêmico da doença. A inibição desta enzima resulta em um aumento dos níveis de adenosina monofosfato cíclica, que por sua vez, modula negativamente a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-23, IL-17 e outras envolvidas no processo patogênico da psoríase (TORRES; PUIG, 2018).

A fototerapia (ultravioleta B de banda estreita) e a fotoquimioterapia (psoraleno mais ultravioleta A) associada a terapia sistêmica é necessária para pacientes com doença em grau moderado a grave. Os efeitos na terapia anti-psoriática são amplos e eficazes, que incluem a redução das células Langerhans, inibição da ativação de células T, indução da apoptose em células T ativadas, efeito anti-angiogênico e antiproliferativos sobre os queratinócitos e células endoteliais. No entanto, o potencial carcinogênico limita o uso a longo prazo (MORITA, 2018; ZHANG; WU, 2018).

Nas últimas décadas, a terapia com biofármacos também tem sido uma das estratégias terapêuticas utilizadas para inibir ou modular especificamente a atividade de células T ou mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da psoríase (WOO; CHO; PARK, 2017; PASTOR-FERNÁNDEZ; MARIBLANCA; NAVARRO, 2020). Um número crescente de biofármacos foram aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América (EUA) nos últimos anos (SHALHOUT *et al.*, 2020). Em sua grande maioria, a citocina TNF é o alvo molecular

predominante dos novos agentes, como infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab. Outros anticorpos monoclonais são direcionados a IL-17A (ixekizumab e secukinumab), IL-17R (brodalumab), CD11a (efalizumab), IL-12/IL-23 p40 (ustekinumab) e IL-23 p19 (guselkumab e tildrakizumab). Ainda em fase clínica e em relatos de casos da literatura, uma série de biofármacos visando outros alvos moleculares, como citocinas e seus receptores (IL-1 α , IL-1R, IL-2, IL2R, IL-6R, IL-8, IL-20, IL-22, IL-12/ IL-23 p40), antígeno associado à função linfocitária 3, receptor adenosina A3, I κ B kinase, molécula *Janus kinase* (JAK)-1/3 e -1/2, proteína C reativa, e proteína quinase ativada por mitógeno-p38, estão sendo investigados na terapia antipsoriática (TSAI; TSAI, 2017; CIECHANOWICZ *et al.*, 2018; SHALHOUT *et al.*, 2020).

Em relação à eficácia terapêutica, os biofármacos têm demonstrado melhores resultados a curto prazo em relação a terapia medicamentosa sistêmica convencional, embora isso tenha sido provado até o momento em apenas alguns estudos clínicos comparativos. Apesar de serem bem tolerados e dos resultados terapêuticos promissores, há relatos de muitos efeitos adversos potencialmente graves, principalmente para a terapia anti-TNF (CONNOR, 2011; CARRASQUILLO *et al.*, 2020). Alguns dos efeitos colaterais comuns incluem: reações no local de aplicação, maior incidência de infecções, formação de auto-anticorpos e lúpus eritematoso induzido por drogas, anormalidades das funções hepáticas, distúrbios hematológicos e neoplasias de órgãos sólidos (CONNOR, 2011; MURDACA *et al.*, 2019; CARRASQUILLO *et al.*, 2020).

1.2. TERAPIA GÊNICA

1.2.1. Mecanismo de interferência mediada por RNA (RNAi)

A interferência mediada por RNA (RNAi) é um fenômeno de silenciamento gênico pós-transcricional de genes alvo homólogos. Desde a sua descoberta em plantas e microorganismos na década de 80 e posteriormente, demonstrações de processos semelhantes em células de mamíferos em 2001, a RNAi ganhou notável atenção e tornou-se um procedimento comum para estudar funções de genes e identificar potenciais genes-alvos relacionados a doenças (FIRE *et al.*, 1998;

ELBASHIR *et al.*, 2001; CAILLAUD; EL MADANI; MASSAAD-MASSADE, 2020) (Figura 3).

Figura 3 - Histórico de desenvolvimento da terapêutica com RNAi.

Fonte: Adaptado de Setten; Rossi; Han (2019) e Weng *et al.* (2019).

Além de ser uma ferramenta na pesquisa genômica funcional, a RNAi é uma grande promessa na terapia gênica, principalmente em doenças em que o silenciamento de genes-específicos seja benéfico para a redução ou supressão de produtos codificados (KACZMAREK; KOWALSKI; ANDERSON, 2017; WENG *et al.*, 2019). Nos últimos anos, uma série de dificuldades foram enfrentadas por empresas e pesquisadores acadêmicos para superar as falhas de ensaios clínicos com RNAi. Os avanços substanciais na área molecular combinados com uma seleção mais criteriosa da doença e alvos terapêuticos, processos de desenvolvimento clínicos validados e melhores capacidades de fabricação, permitiram a criação de uma nova linha de compostos terapêuticos mais seguros e eficazes (SETTEN; ROSSI; HAN, 2019; CAILLAUD; EL MADANI; MASSAAD-MASSADE, 2020).

Em 2018, o FDA dos EUA aprovou um medicamento baseado em RNAi (Onpattro; Alnylam Pharmaceuticals) para o tratamento da amiloidose transtiretina hereditária com polineuropatia. Outros candidatos a medicamentos para doenças

cardio-metabólicas, hepáticas, renais e oculares estão atualmente em ensaios clínicos de fase I, II e III, e são esperadas aplicações investigativas de novos medicamentos visando o sistema nervoso central e outros tecidos. Essa aprovação anuncia uma nova era no campo da terapia com RNAi, permitindo que novas investigações, aprimoramentos e tratamentos inovadores sejam aplicados em clínica (SETTEN; ROSSI; HAN, 2019; WENG *et al.*, 2019).

O mecanismo de RNAi pode ser dividido em duas fases distintas: a fase de iniciação, onde ocorre a geração de moléculas efetoras, as quais podem ser classificadas em relação a sua origem e função (do inglês, *small interfering RNA*, [siRNA]; *micro RNA*, [miRNA]; e *short hairpin RNA*, [shRNA]), e a fase de execução, onde ocorre a incorporação das moléculas efetoras em complexos proteicos e a promoção do silenciamento gênico (DYKXHOORN; NOVINA; SHARP, 2003; WITTRUP; LIEBERMAN, 2015).

No citoplasma das células, o RNA de fita dupla (dsRNA) é identificado por uma enzima ribonuclease, chamada Dicer, que o cliva em pequenos fragmentos de cadeia dupla de 21 a 23 pares de bases. Esses fragmentos são reconhecidos como siRNA. Posteriormente, siRNA se monta em um complexo multiproteico (do inglês, *RNA-induced silencing complex* [RISC]) via proteína TRBP (do inglês, *Transactivator RNA Binding Protein*). O RISC funcional inclui quatro subunidades diferentes: helicase, exonuclease, endonuclease e domínios de homologação. À medida que o siRNA se liga ao RISC, o siRNA duplex é clivado pela helicase, levando à formação de duas cadeias simples. Isso resulta na admissão da cadeia *anti-sense* para se ligar às moléculas alvo do RNA mensageiro (RNAm). A endonuclease (argonaute-2) hidrolisa o RNAm homólogo no local onde a cadeia *anti-sense* está ligada (**Figura 4**). O RNAi possui um mecanismo de ação *anti-sense*, pois, em última instância, um RNAm de cadeia única se liga ao RNAm alvo pelas regras de emparelhamento da base Watson-Crick e recruta uma ribonuclease que degrada o RNA alvo (DYKXHOORN; NOVINA; SHARP, 2003; MEISTER; TUSCHL, 2004; AMERES; MARTINEZ; SCHROEDER, 2007; SASHITAL; DOUDNA, 2010).

Um fator de grande importância é a complementaridade entre o RNAm alvo e a fita *anti-sense* do siRNA, pois a clivagem só ocorrerá se esta for homóloga. Para tanto, o complexo RISC possui um domínio de verificação onde se inicia a ligação entre o alvo e o siRNA, numa região denominada semente. Após a extensão da complementaridade desta região para o restante do RNAm, a enzima argonaute-2 é

ativada, clivando o alvo e gerando o silenciamento (MEISTER; TUSCHL, 2004; CERUTTI; CASAS-MOLLANO, 2006; BELLEFROID *et al.*, 2019).

Figura 4 - Mecanismo de silenciamento mediado por siRNA. [A] Estrutura siRNA. [B] Processo de silenciamento gênico.

Fonte: DYKXHOORN *et al.* (2003).

1.2.2. Desafios, estratégias e aplicações de siRNAs em doenças cutâneas

Diante do seu potencial terapêutico, o silenciamento gênico via siRNA criou um novo paradigma no desenvolvimento e descoberta de novos fármacos em relação a terapia tradicional. As vantagens dessa estratégia incluem, principalmente, a ação diretamente no citoplasma, sem necessidade de atingir o núcleo; elevada especificidade, devido à projeção de sequências moleculares de acordo com o gene-alvo; e alta eficiência devido à natureza catalítica do processo, no qual as moléculas de siRNA podem ser usadas repetidas vezes para guiar a clivagem de moléculas de RNAm alvo (VICENTINI *et al.*, 2013b; SETTEN; ROSSI; HAN, 2019).

Nos últimos anos, diversos estudos clínicos a base de siRNA foram conduzidos para uma variedade de doenças de ordem cutânea e sistêmica, e os resultados

mostraram-se promissores, reforçando a grande viabilidade dessa nova modalidade terapêutica (ALJUFFALI; LIN; FANG, 2016; ROSA *et al.*, 2018; WENG *et al.*, 2019; AIN *et al.*, 2020). No entanto, devido as suas características intrínsecas, como instabilidade e susceptibilidade a degradação, tamanho (~13 kDa), natureza aniônica, penetração ineficiente nas células e um perfil farmacocinético deficiente, impossibilitaram o seu uso direto no tratamento de doenças (LIU *et al.*, 2018a). Devido a essas limitações e aos fatores relacionados à administração pela via tópica, o desenvolvimento de sistemas carreadores é apontado como fator chave para viabilizar a aplicação clínica da terapia anti-sense em doenças dermatológicas (VICENTINI *et al.*, 2013b; TAI; GAO, 2017; LIU *et al.*, 2018a).

Um carreador ideal para a entrega de siRNA deve satisfazer alguns requisitos, como: i) ultrapassar as barreiras inerentes a cada via de administração; ii) ligar-se às moléculas de siRNA promovendo proteção contra degradação enzimática; iii) facilitar a transfecção celular e superar a incapacidade das moléculas de siRNA difundirem passivamente pelas membranas celulares devido a repulsão eletrostática; iv) promover o escape endossomal liberando o conteúdo do endossomo no citoplasma celular antes que ocorra a metabolização lisossomal; e v) não provocar uma resposta imune ou tóxica no organismo (DURYMANOV; REINEKE, 2018).

Os principais carreadores utilizados para a entrega efetiva dos siRNAs incluem os de origem virais e não virais (VIDEIRA *et al.*, 2014; DURYMANOV; REINEKE, 2018; LIU *et al.*, 2018a). Os sistemas virais são os mais eficazes e atualmente correspondem por mais de 70% dos vetores usados em ensaios clínicos. No entanto, limitações de tamanho da carga e incertezas sobre mutagênese, toxicidade, imunogenicidade e altos custos de fabricação limitam o seu desempenho e avanço clínico, o que direciona a pesquisa para soluções alternativas (YANG; LIU; ZHANG, 2014). Diante disso, os vetores não-virais surgiram como importantes sistemas carreadores bio-compatíveis, de fácil produção, passíveis de modificações estruturais e direcionamento a diferentes alvos celulares, além de baixa resposta imunogênica (TATIPARTI *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2018a; KIM; PARK; SAILOR, 2019).

Alguns dos vetores de genes não virais mais comumente usados são lipoplexos e poliplexos, e em alguns casos, os sistemas nanoparticulados (como nanopartículas inorgânicas e nanopartículas orgânicas), que tem ganhado grandes avanços tecnológicos e incentivo científico. O uso de nanopartículas tem apresentado resultados promissores na entrega citosólica e silenciamento gênico de diferentes

alvos (SHEN *et al.*, 2018; ULUDAG; UBEDA; ANSARI, 2019), principalmente após o primeiro ensaio clínico ser publicado em 2010 (DAVIS *et al.*, 2010). Nesses sistemas, o material genético é tipicamente complexado e neutralizado com agentes catiônicos, como polímeros ou lipídeos de alto peso molecular por meio de interações iônicas não covalentes. Tais complexos condensados não covalentes podem mediar alta eficiência de transfecção e proteger contra degradação e reconhecimento imune (KARGAARD; SLUIJTER; KLUMPERMAN, 2019; ITA, 2020). Os polímeros catiônicos, como polietilenimina (PEI), quitosana, poli- β -aminoésteres, dentre outros, são em sua grande maioria, os agentes de transfecção mais utilizados para entrega de RNA e oligo-DNAs. No entanto, uma desvantagem fundamental dos sistemas polycations é a citotoxicidade inerente que eles causam devido à sua carga positiva, tornando-os indesejáveis para adaptação em aplicações de terapia gênica (KARGAARD; SLUIJTER; KLUMPERMAN, 2019; SALAMEH *et al.*, 2020).

Neste contexto, a pesquisa atual visa o uso de estratégias alternativas para alcançar altas taxas de internalização e menores efeitos tóxicos, como o uso de peptídeos de penetração celular, síntese e modificações químicas estruturais (DONG; SIEGWART; ANDERSON, 2019; KARGAARD; SLUIJTER; KLUMPERMAN, 2019; CAILLAUD; EL MADANI; MASSAAD-MASSADE, 2020). Como exemplo, relatórios científicos mostraram que a superfície de nanopartículas modificadas com o polímero poli(alilamina hidrocloreto) (PAH) apresentou resultados significativos na entrega de ácidos nucleicos e fármacos, além de melhores respostas celulares quando comparado a outros agentes catiônico, como policloreto de dialil dimetil amônio e PEI, além de controlar a liberação de fármacos de modo pH-dependente (HAN, L.; TANG; YIN, 2015; MA *et al.*, 2016; WANG, B. *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2016; ZHANG, C. *et al.*, 2017). Taxas de transfecção celular equivalentes foram obtidas com nanopartículas de ouro recobertas com PAH em relação às nanopartículas com PEI, além de efeitos silenciadores aprimorados e melhor citocompatibilidade (ZHAO *et al.*, 2012).

Em relação à entrega tópica de ácidos nucleicos, a forte demanda por tratamentos mais eficazes para os numerosos distúrbios da pele emergiu para a aplicação de siRNAs e outros oligonucleotídeos, como estratégia para modular a expressão dos genes responsáveis pelas desordens cutâneas (VICENTINI *et al.*, 2013b; ALJUFFALI; LIN; FANG, 2016; AIN *et al.*, 2020). Essa terapia tem sido aplicada principalmente no tratamento de feridas (reparo tecidual), doenças inflamatórias (acne e dermatite), parasitária (leishmania cutânea), infecciosas (lepra, micoses e herpes),

auto-imunes (*Alopecia areata*, vitiligo e psoríase), de ordem genética (paquioniquia congênita, *Epidermolysis bullosa* e albinismo oculocutâneo) e no câncer de pele (ROSA *et al.*, 2018).

Na terapia anti-psoriática os alvos de silenciamento têm sido direcionados a citocinas envolvidas na cascata imunopatológica. siRNA β -defensiva-2 e siRNA IL-6 veiculados em lipossomas e nanodispersões líquido-cristalinas, respectivamente, proporcionaram um silenciamento eficiente dos genes-alvos em modelo de pele psoriática *in vitro*, além de permitir uma maior penetração cutânea (DEPIERI *et al.*, 2016; DESMET *et al.*, 2016). Em estudos *in vivo*, a aplicação de nanopartículas híbridas lipídicas-poliméricas co-carregadas com siRNA TNF- α e capsaicina, carreador líquido nanoestruturado co-carregado com tacrolimus e siRNA TNF- α , e nanodispersões líquido-cristalinas funcionalizadas com peptídeo de penetração (TAT) e siRNA TNF- α mostraram reduzir as lesões psoriáticas e uma diminuição acentuada dos níveis de TNF- α (DESAI *et al.*, 2013; PETRILLI *et al.*, 2016; VIEGAS *et al.*, 2020). Pandi *et al.* (2018) mostraram que a aplicação de siRNA TNF- α veiculado em dendrímeros ou lipossomas resultou em uma melhora das características fenotípicas e histopatológicas da psoríase induzida em animais, acompanhadas de acentuada redução dos níveis de IL-6, TNF- α , IL-17 e IL-22 (PANDI *et al.*, 2018). De forma semelhante, a aplicação de erlotinib e siRNA IL-36 em nanopartículas lipídicas e siRNA EGF veiculado em nanopartículas coloidais de ouro também demonstraram melhorar o perfil psoriático *in vivo* (BOAKYE *et al.*, 2017; NEMATİ *et al.*, 2017).

1.3. TRIPTOLIDA

A triptolida, um diterpenotriepóxido (**Figura 5**), componente ativo majoritário extraído das raízes da erva chinesa *Tripterygium wilfordii* Hook. F. (TWHF) possui um potencial terapêutico de amplo espectro devido às suas propriedades imunossupressoras, anti-inflamatórias e antitumorais (ZHOU *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2018). Desde a sua extração e isolamento em 1972 por Kupchan *et al.*, seus efeitos farmacológicos e toxicidade clínica foram extensivamente investigados (ZHOU *et al.*, 2012; XI *et al.*, 2017; TASNEEM *et al.*, 2019).

Figura 5 - Estrutura química da triptolida.

Fonte: ZHOU *et al.* (2012).

Os efeitos terapêuticos da triptolida isolada e em preparações brutas da TWHF foram avaliados em ensaios clínicos na China e nos EUA para o tratamento de doenças autoimunes e inflamatórias de ordem cutânea e sistêmica (LIU, 2011; ZHOU *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2018; LI; HAO, 2019). Na terapia anti-psoriática os pacientes com diferentes tipos da doença (vulgar, pustulosa, gutata ou eritrodérmica) exibiram uma melhora das áreas psoriáticas e diminuição do PASI, em relação aos grupos placebos. No entanto, foi relatada a ocorrência de efeitos secundários, como irritações gastrointestinais, alterações no ciclo menstrual e leve leucocitopenia, efeitos estes, reversíveis após interrupção do tratamento (HAN *et al.*, 2012b).

Outras investigações pré-clínicas e clínicas com a triptolida incluem a sua aplicação como estratégia terapêutica em lesões medulares e ósseas, doenças intestinais, renais, oculares, neuronais e pulmonares, e em diversos tipos de cânceres. Além disso, a triptolida mostrou resultados promissores como um agente indutor da tolerância imunológica em transplantes (como os transplantes de ilhotas pancreáticas em pacientes diabéticos; e de rins) (LI; JIANG; ZHANG, 2014; CHEN *et al.*, 2018; LI; HAO, 2019).

Os mecanismos moleculares de ação da triptolida estão envolvidos com a inibição global da transcrição por meio da subunidade RPB1 da RNA polimerase II, sendo crítica para a transcrição de mRNAs. Além disso, numerosas moléculas e vias de sinalização relacionadas à apoptose e respostas imunes/ inflamatórias são afetadas pela triptolida, a maioria das quais, após a inibição transcricional. Várias proteínas foram identificadas como alvo de ligação a triptolida, incluindo a policistina-2, desintegrina e metaloprotease 10 e dCTP pirofosfatase 1 (LIU, 2011; ZHOU *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2018; RIMEL; TAATJES, 2018). Fatores de transcrição, como NF- κ B (do inglês, *nuclear factor Kappa B*), fator de transcrição de choque térmico 1 (acompanhado da redução da expressão da proteína Hsp70), proteína ativadora-1,

fator nuclear de células T ativadas e fator induzido por hipóxia-1 α também foram reportados como alvos de ligação da triptolida (CHEN, S. R. *et al.*, 2018; LIU, Q., 2011; RIMEL; TAATJES, 2018; ZHOU, Z. L. *et al.*, 2012; LI, X. J.; JIANG; SONG, C. *et al.*, 2019).

A proteína XPB (do inglês, *xeroderma pigmentosum type B*; ou também chamada de ERCC3), uma helicase associada a mecanismos de reparo e transcrição de DNA, tem sido também reportada como alvo molecular da triptolida. Neste caso, a triptolida se liga covalentemente a XPB, inibindo sua atividade ATPásica dependente do DNA. A XPB, é uma subunidade do fator de transcrição geral, TFIIH, que é essencial para que a RNA polimerase II reconheça os promotores e inicie a transcrição com precisão. Enquanto isso, a XPB está envolvida no reparo de excisão de nucleotídeos em resposta a danos no DNA. Portanto, a inibição da XPB pela triptolida potencializa a inibição da transcrição mediada pela RNA polimerase II e o processo de reparação de danos no DNA (ZHOU *et al.*, 2012; RIMEL; TAATJES, 2018).

Investigações *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a triptolida inibe a função proliferativa das células T e também pode atuar na inibição da IL-2 por meio de vias envolvendo íons cálcio. Na imunidade humoral, a triptolida interfere parcialmente na proliferação de células B e na produção de imunoglobulinas. Por outro lado, as funções dos macrófagos são intensamente inibidas, resultante da supressão gênica de numerosos mediadores pró-inflamatórios (IFN- α ; TNF- α ; IL-1, -4, 6, -8 e -23; ciclooxigenase-2 e prostaglandina E2) e expressão de receptores de células T. A diferenciação e migração das CDs também é afetada pela regulação negativa da expressão de receptores e proteínas de superfície (MATTA *et al.*, 2009; LIU, 2011; ZHOU *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2018).

Em outros tipos celulares, como fibroblastos sinoviais, fibroblastos da córnea, células epiteliais brônquicas e condrócitos, a triptolida demonstrou desencadear efeitos citostáticos e apoptóticos, além de inibir a produção de mediadores pró-inflamatórios (IL-6, -8, e -18; TNF- α e ciclooxigenase-2) (LIU, 2011; ZHOU *et al.*, 2012; SONG *et al.*, 2019). Nos estudos de Hongqin Tu *et al.* (2011) a triptolida mostrou reduzir significativamente a expressão do receptor α de IFN- γ , ICAM-1 na superfície celular e de pJAK2 em queratinócitos humanos normais (linhagem HaCaT), além de regular positivamente SOCS-1 (TU *et al.*, 2011).

Apesar de suas múltiplas atividades biológicas e desempenho clínico notável, a aplicação da triptolida na clínica médica é limitada, principalmente, devido a sua

baixa solubilidade em água (coeficiente de partição n-octanol/água de 0,58), baixa biodisponibilidade oral, acentuada toxicidade e baixo índice terapêutico, além dos baixos rendimento de extração (HOU; LIU; XU, 2019). Desta forma, diferentes estratégias tem sido empregadas para viabilizar o seu uso, como a síntese moléculas estruturalmente semelhantes, administração concomitante com outros fármacos e a sua veiculação em sistemas nanoestruturados (CHEN *et al.*, 2018). A conjugação direta da triptolida com ligantes selecionados, como aptâmeros, anticorpos, peptídeos ou resíduos de açúcar também tem sido uma estratégia útil para melhorar os aspectos farmacológicos e físico-químicos da triptolida (HOU; LIU; XU, 2019).

Modificações estruturais nos principais grupamentos químicos da molécula originou derivados sintéticos que atualmente estão em investigação pré-clínica e clínica, como PG490-8, MRx102, LLDT-8, LLDT-67, LLDT-88, F60008, Minnelide e Omtritolide. Os resultados são promissores, principalmente para o tratamento de cânceres e doenças inflamatórias (CHEN *et al.*, 2018; HOU; LIU; XU, 2019).

Sistemas carreadores nanoestruturados também têm sido desenvolvidos como uma estratégia viável e de fácil acesso para permitir o uso terapêutico seguro da triptolida. Dentre as recentes aplicações, destaca-se àquelas direcionadas ao tratamento de cânceres e artrite reumatóide (XU, LIU, 2019). Um resumo dos nanocarreadores investigados nos últimos 10 anos é apresentado na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Sistemas carreadores nanoestruturados para veiculação de triptolida

<i>Nanocarreador</i>	<i>Objetivo ou patologia em estudo</i>	<i>Via de administração¹</i>	<i>Referência</i>
Carreador lipídico nanoestruturado	Artrite reumatoide	TD	(GU <i>et al.</i> , 2019)
	Estudos toxicológicos	VO	(GU <i>et al.</i> , 2018)
Etossoma	Eritema	T	(CHEN; LIU; GAO, 2010)
Lipossoma	Artrite reumatoide	TD e TG	(CHEN <i>et al.</i> , 2015)
	Nefropatia membranosa	IV	(YUAN <i>et al.</i> , 2017)
	Câncer pulmonar ortotópico	IP	(LIN <i>et al.</i> , 2018a)
Microemulsão	Estudos toxicológicos	TD	(XU <i>et al.</i> , 2008a)
	Desenvolvimento farmacotécnico	TD	(CHEN <i>et al.</i> , 2004, 2007, 2013)
	Edema e estudos toxicológicos	TD	(MEI <i>et al.</i> , 2003)
Nanoemulsão	Estudo farmacocinético	IV	(LI <i>et al.</i> , 2016)
	Dermatite/ eczema e estudos toxicológicos	TD	(YANG <i>et al.</i> , 2017)
Nanopartícula lipídica sólida	Estudos toxicológicos	IG	(XUE <i>et al.</i> , 2012)
	Estudos toxicológicos	VO	(GU <i>et al.</i> , 2018)
	Inflamação cutânea	TD	(GU <i>et al.</i> , 2018)
	Edema e estudos toxicológicos	TD e VO	(MEI <i>et al.</i> , 2003, 2005)
Nanopartícula polimérica	Câncer pancreático	-	(DING <i>et al.</i> , 2017)
	Artrite reumatóide	VO	(LIU <i>et al.</i> , 2005, 2008)
	Lesão pulmonar	IM	(HOYLE <i>et al.</i> , 2016)
	Artrite reumatoide	IV	(ZHANG <i>et al.</i> , 2018)
	Carcinoma hepatocelular	IV	(ZHANG <i>et al.</i> , 2019)
Micela polimérica	Sarcoma	IV	(XU <i>et al.</i> , 2008b)
	Estudo farmacocinético e toxicológico	IV	(LI; WEN; DI, 2012; XU <i>et al.</i> , 2013)
	Carcinoma hepatocelular	IV	(LING <i>et al.</i> , 2014)
	Melanoma e angiogênese	IV	(WANG <i>et al.</i> , 2015a)
	Câncer de ovário	-	(WANG; LIU; LI, 2016)
	Câncer de próstata	IV	(XU <i>et al.</i> , 2018)
	Câncer de cólon humano e leucemia	-	(ZHENG <i>et al.</i> , 2011)
Nanopartícula híbrida lipídica-polimérica	Carcinoma oral e hepatoma	IV	(WU <i>et al.</i> , 2017)
	Câncer de pulmão	IV	(LIU <i>et al.</i> , 2018b)

¹Via de administração sugerida pelos autores ou utilizada nos estudos *in vivo*.

Abreviações: TD, via transdérmica; T, via tópica; IG, via intra-gástrica; IM, via intramuscular; IV, via intravenosa; IP, via intra-peritoneal; e VO, via oral.

Fonte: do autor, 2020.

Para aplicação tópica de triptolida destaca-se as nanoemulsões, microemulsões, nanopartículas e vesículas lipídicas (CHEN *et al.*, 2004; MEI *et al.*, 2005; XU *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2010; XUE *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2013; YANG

et al., 2017). Tais estudos sugerem que o uso desses nanocarreadores proporcionou melhores perfis de permeação da triptolida com menor toxicidade, tanto a nível cutâneo como sistêmico (XU *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2017; XU, LIU, 2019).

A co-administração de triptolida com outras moléculas bioativas em nanocarreadores mostrou resultados terapêuticos mais pronunciados, quando comparado ao tratamento isolado. Micelas ou nanopartículas híbridas carregadas com triptolida e doxorubicina produziram efeito antitumoral sinérgico contra linhagem celular de câncer de próstata e carcinoma espinocelular de cavidade oral humana (WU *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018). De forma semelhante, a combinação de triptolida e celastrol em nanopartículas de fibroína de seda mostrou sinergismo antitumoral em diferentes linhagens de câncer de pâncreas (DING *et al.*, 2017). Lipossomas funcionalizados com anticorpos anti-anidrase carbônica IX e peptídeo de penetração celular (CPP33) demonstraram melhorar o direcionamento e atividade antitumoral da triptolida *in vitro* e *in vivo*, além de diminuir a toxicidade sistêmica (LIN *et al.*, 2018a).

1.4. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

1.4.1. Cristais líquidos

Os cristais líquidos (CL) compreendem um estado intermediário da matéria, localizado termodinamicamente entre o estado líquido isotrópico e o estado sólido cristalino. Eles exibem propriedades de fluxo como um líquido e, ao mesmo tempo, retêm parcialmente a ordem de um cristal (GARBOVSKIY; GLUSHCHENKO, 2010; MILAK; ZIMMER, 2015). Devido às suas características de auto-organização em nanoestruturas uni, bi ou tridimensionais, simetria e ampla área interfacial, os CLs ganharam atenção considerável da comunidade científica, principalmente após a década de 70, quando houve crescente desenvolvimento eletrônico, industrial e, posteriormente, nanotecnológico (GARBOVSKIY; GLUSHCHENKO, 2010; MITOV, 2014; MEZZENGA *et al.*, 2019; ZHAI *et al.*, 2019).

O estado líquido-cristalino pode ser obtido de duas maneiras fundamentalmente diferentes, levando a dois tipos básicos de CLs: termotrópico (CLT) e liotrópico (CLL). O primeiro tipo é formado por moléculas, ou mistura de moléculas, que apresentam anisotropia de forma (anisometria), e as diferentes estruturas e ordenamento local dessas moléculas individuais ocorrem em função da temperatura (e pressão) do material; enquanto que o segundo tipo é formado por misturas de

moléculas anfifílicas e solventes (geralmente água) que, em determinadas condições de temperatura, pressão e concentrações relativas dos diferentes componentes, apresentam a formação de superestruturas (agregados moleculares) que se organizam no espaço, exibindo algum grau de ordem (HYDE, 2001; DIERKING; AL-ZANGANA, 2017).

Os mesógenos (moléculas anfifílicas) em contato com a água se auto-organizam formando superestruturas para minimizar o contato entre a região apolar da molécula e o solvente polar, desta forma, o tipo de estrutura líquido-cristalina formada é governado pelo empacotamento molecular das moléculas de lipídios, que é refletido por seu parâmetro de empacotamento crítico (CPP, do inglês, *critical packing parameter*) (SEDDON; TEMPLER, 1995; HYDE, 2001; VAN'T HAG *et al.*, 2017; MEZZENGA *et al.*, 2019). Assim, o CPP é expresso como a razão entre o volume da cadeia hidrofóbica do anfifilo, a área do grupo de cabeça polar da seção transversal e o comprimento da cadeia lipídica. Como é comumente relatado, se o CPP estiver próximo de 1, há formação de agregado de interface planar (fase lamelar); quando <1 , as moléculas agregam-se ao tipo normal, e quando >1 , micelas invertidas são formadas (MILAK; ZIMMER, 2015; SILVESTRINI *et al.*, 2020). Ainda, o CPP pode ser influenciado por fatores elementares, incluindo a concentração e curvatura espontânea da molécula de lipídeo, bem como parâmetros ambientais, incluindo temperatura, teor de água, força iônica e pH (TAN *et al.*, 2019).

As principais mesofases e mais estudadas no campo biológico e biomédico incluem: lamelar (L), cúbica bicontínua ou descontínua (Q), e hexagonal (H), existindo como pares simétrico (tipo I ou normal), onde os lipídeos são agregados em uma matriz contínua de água; ou um sistema onde os grupos hidrofílicos hidratados encontram-se dispostos dentro de uma matriz apolar contínua composta pelas cadeias de hidrocarbonetos (tipo II ou invertido) (**Figura 6**). Além dessas mesofases, uma variedade de outras intermediárias tem sido propostas na literatura científica, tais como fase esponjosa e híbridas (SILVESTRINI *et al.*, 2020).

Resumidamente, na mesofase lamelar, a bicamada lipídica é disposta em uma rede unidimensional, separada por camadas de água, formando interfaces de curvatura zero. Fluidez e anisotropia na forma de mosaico planar e/ou cruces de malta são características dessa mesofase (CHAUDHARY; KANNOJIA; MISHRA, 2016; PHILIP, 2017). Por outro lado, a mesofase cúbica apresenta propriedades isotrópicas e alta viscosidade. É formada por uma bicamada lipídica curva, que se estende em

três dimensões, separada por dois canais congruentes de água, que possuem diâmetro de 5 nm quando o sistema está totalmente hidratado. Quando adicionado o excesso de água, a fase cúbica aparece como transparente, apresentando altas propriedades viscosa e elástica, gel isotrópico e termodinamicamente estável. Existe duas famílias de mesofases cúbicas, que apresentam perfis cristalográficos distintos, sendo: fase cúbica bicontínua ($Pn3m$, $Im3m$ e $la3d$) e fase cúbica micelar ($Fd3m$ e $Fm3m$) (MILAK; ZIMMER, 2015; SILVESTRINI *et al.*, 2020). A mesofase hexagonal consiste em um empacotamento denso de sete micelas cilíndricas, dispostas em uma rede hexagonal 2 D, podendo existir na forma normal ou inversa. Na forma inversa, a porção aquosa encontra-se contida nas micelas invertidas cilíndricas, com um diâmetro de 1 a 2 nm, e o espaço restante é ocupado pelas cadeias hidrofóbicas que se sobrepõem, deixando os cilindros mais próximos do que na fase hexagonal normal (HYDE, 2001; MILAK; ZIMMER, 2015).

Figura 6 - Principais mesofases líquido-cristalinas liotrópicas. Parâmetro crítico de empacotamento e a morfologia agregada resultante de acordo com a curvatura interfacial: $CCP < 1$ para tipo I, $CCP = 1$ para plano lamelar e $CCP > 1$ para estruturas do tipo II.

Fonte: modificado de SILVESTRINI *et al.* (2020).

A obtenção da mesofase líquida cristalina hexagonal torna-se possível, além das variações na concentração do solvente e da temperatura, pela incorporação de aditivos. Cada aditivo afeta a curvatura interfacial (dada pelo CPP) da bicamada lipídica de uma maneira diferente (FONG *et al.*, 2016). Geralmente, aditivos lipofílicos induzem uma transição de uma fase bicontínua cúbica para uma fase hexagonal reversa, tornando a curvatura interfacial média mais negativa. Já os aditivos mais hidrofílicos induzem a transição de uma fase bicontínua cúbica reversa para a fase lamelar, onde a curvatura média da interface muda para zero. Adicionalmente, as

mudanças na geometria molecular são usadas para explicar as transições de fase, bem como as transformações inter-cúbicas, nos sistemas lípideo-água (LI; JIANG; ZHANG, 2014; ZABARA; MEZZENGA, 2014; MILAK; ZIMMER, 2015; HUANG; GUI, 2018).

Além disso, quaisquer outros aditivos, incluindo a carga útil, podem modificar o empacotamento dos lipídios dentro da mesofase líquido-cristalina e induzir transições de fase (SILVESTRINI *et al.*, 2020). Em relação aos fármacos ou moléculas ativas, as interações com a bicamada lipídica devem ser otimizadas para que o fármaco não seja liberado prematuramente ou retido por muito tempo. São as dimensões das estruturas líquido-cristalinas liotrópicas que determinam a taxa de liberação do fármaco aprisionado (ZABARA; MEZZENGA, 2014). Uma série de estudos mostraram que moléculas anfifílicas apresentam um comportamento de liberação complexo, que depende da combinação do coeficiente de partição, da difusão da pelos canais de água e da difusão na bicamada lipídica. Por outro lado, as moléculas hidrofóbicas se dividem principalmente na bicamada lipídica e são caracterizadas por um intrincado comportamento de liberação, que depende principalmente de seu coeficiente de partição, da sua difusão na bicamada lipídica e difusão na água circundante. Por sua vez, as moléculas hidrofóbicas estão principalmente acomodadas no domínio lipofílico, e seu comportamento de liberação pode ser considerado puramente difusivo. A difusão pode ser dificultada pela via através dos canais aquosos e por interações com a superfície hidrofílica da bicamada lipídica. Desta forma, é comumente aceito que o comportamento de liberação de moléculas hidrofílicas depende fortemente das estruturas da mesofase devido às diferentes dimensões de seus domínios de água (NEGRINI; MEZZENGA, 2012; MILAK; ZIMMER, 2015; SILVESTRINI *et al.*, 2020).

A fim de otimizar esses materiais como sistemas de entrega de medicamentos, essas interações podem ser perfeitamente ajustadas pela modificação da estrutura da mesofase, as interações eletrostáticas entre o fármaco e a superfície da bicamada lipídica e/ ou as dimensões dos domínios da água ou a sua interconectividade (SILVESTRINI *et al.*, 2020). Algumas das estratégias incluem a incorporação de lipídeos que alteram a mobilidade da bicamada lipídica, intensificadores de hidratação (por exemplo, octilglucosídeo, estearato de sacarose, colesterol e lipídeos aniônicos), proteínas formadoras de poros de membrana, combinação de lipídeos anfifílicos, ou ainda, através de estímulos intrínsecos e extrínsecos, como a utilização de componentes com sensibilidade térmica ou que alterem as temperaturas de transição,

componentes que respondem às mudanças de pH ou força iônica, uso de moléculas fotocrômicas ou nanopartículas plasmônicas ou magnéticas no sistema líquido-cristalino para indução de fase por meio da geração de calor ao absorver a energia luminosa ou eletromagnética (FONG; HANLEY; BOYD, 2009; LIU et al., 2013; LI; JIANG; ZHANG, 2014; NAZARUK et al., 2014, 2015; ZABARA; MEZZENGA, 2014; NEGRINI et al., 2015; FONG et al., 2016; HUANG; GUI, 2018; MERTINS; MATHEWS; ANGELOVA, 2020)

Nos últimos anos, uma variedade de lipídeos anfifílicos foi investigada como possíveis candidatos para obtenção de sistemas líquido-cristalinos. Os principais tipos de lipídeos anfifílicos empregados foram: monooleato de glicerila (ou monoleína), monolinoleato de glicerila (ou monolinoleína), fitantriol, monoelaidina, fosfatidiletanolamina e oleoiletanolamina, a fosfolipídios, fosfolipídios PEGuilados, alquilgliceratos e glicolipídios (SILVESTRINI *et al.*, 2020). Dentre eles, os sistemas baseados em monooleato de glicerila, monolinoleato de glicerila e fitantriol surgiram como candidatos ideais para a liberação sustentada de moléculas bioativas, principalmente devido ao seu rico polimorfismo e fácil acessibilidade (MILAK; ZIMMER, 2015; CHAUDHARY; KANNOJIA; MISHRA, 2016; AKBAR *et al.*, 2017).

O monooleato de glicerila ou monoleína, monoglicerídeo utilizado no presente estudo, é caracterizado por uma mistura de monoglicerídeos, glicerídeos do ácido oleico e outros ácidos graxos, consistindo principalmente por monooleato. Quimicamente, a cadeia acil do ácido oleico liga-se ao grupamento glicerol por uma ligação éster, e os dois carbonos restantes do glicerol possuem grupos hidroxila ativos, fornecendo características polares a esta porção da molécula. Já a cadeia hidrocarbônica fornece características hidrofóbicas ao monoglicerídeo (KULKARNI *et al.*, 2011). A formação das diferentes estruturas líquida-cristalinas com esta molécula ocorre pela hidratação das porções hidrofílicas pelo solvente hidrofílico, por meio das ligações de hidrogênio, enquanto que as cadeias alifáticas se agregam com base em interações de van der Waals. Como resultado, as fases ordenadas são obtidas, nas quais os domínios hidrofílico e hidrofóbico compõem o filme interfacial da mesofase, e o grau de ordem depende da proporção de monoleína em relação a um solvente adicionado (LIBSTER; ASERIN; GARTI, 2011; MILAK; ZIMMER, 2015).

Na via tópica, a sua administração promove a extração da ceramida e melhora a fluidez dos lipídeos que constituem o estrato córneo, desta forma a monoleína auxilia a permeação de fármacos entre as camadas da pele (LOPES *et al.*, 2006; UCHINO

et al., 2019). Além disso, o uso dos sistemas líquido cristalinos apresenta várias vantagens em comparação com outros sistemas de administração tópica, como capacidade de proteger as moléculas incorporadas contra a degradação, apresenta domínios hidrofílicos e hidrofóbicos que fornecem um veículo ideal para moléculas com diferentes solubilidades, melhoram a solubilidade do medicamento na formulação, proporcionando assim um aumento da biodisponibilidade, além de minimizar possíveis efeitos tóxicos (ZHAI *et al.*, 2019; SILVESTRINI *et al.*, 2020).

1.4.1.1. Nanodispersões líquido-cristalinas (NLCs)

As mesofases lipídicas são termodinamicamente estáveis e, dependendo de sua simetria, muitas vezes podem coexistir com excesso de água, o que possibilita a formação de partículas estruturadas internamente por dispersão em excesso de meio aquoso. Na maior parte, as propriedades estruturais e funcionais das mesofases a granel são preservadas nas fases dispersas (FONG *et al.*, 2016). E desta forma, as NLCs têm sido projetadas para fornecer uma variedade de substâncias farmacologicamente ativas ou de imagem (ZHAI *et al.*, 2019). No entanto, a sua produção é de maior complexidade quando comparada a produção dos CLLs a granel. Na literatura, duas abordagens são reportadas, que inclui *top-down* e *bottom-up* (MULET; BOYD; DRUMMOND, 2013; CHEN; MA; GUI, 2014).

A abordagem *top-down* foi relatada no fim da década de 90, e consiste inicialmente na hidratação do lipídeo anfifílico com a fase aquosa e estabilizantes. Em segundo passo, a fase cristalina formada, de viscosidade variável, requer níveis significativos de energia para desagregar e formar as dispersões estáveis sub-micrométricas (MILAK; ZIMMER, 2015). As forças de cisalhamento mais empregadas incluem a homogeneização de alta pressão e ultra-sonicação, outras técnicas também são empregadas, como centrifugação e extrusão de alta pressão (AKBAR *et al.*, 2017; SILVESTRINI *et al.*, 2020).

Por outro lado, na abordagem *bottom-up*, condições da solução são projetadas para permitir a automontagem de lipídios para formar a estrutura de mesofase particulada a partir de uma solução molecular de fase única. Tipicamente, a porção lipídica é dissolvida num hidrótopo (geralmente etanol) antes da diluição para um meio aquoso de eleição (SPICER *et al.*, 2001). O hidrótopo é capaz de dissolver as moléculas lipídicas insolúveis em água em alta concentração, provocando uma rápida diminuição na solubilidade lipídica que impulsiona a precipitação do componente

lipídico. As partículas se formam e cristalizam a partir da solução precursora, após a adição de excesso de água contendo o estabilizante. Para remover o hidrótopo, a mistura é roto-evaporada (SPICER *et al.*, 2001; ANGELOVA *et al.*, 2017; SILVESTRINI *et al.*, 2020).

Outros métodos, menos explorados, incluem os processos de evaporação de solvente e método da temperatura de inversão de fase. Na evaporação do solvente, a fase lipídica é combinada com um solvente volátil e uma solução com estabilizantes antes da emulsificação por sonicação. O tamanho das partículas também pode ser manipulado com a quantidade de solvente volátil incorporado. O método de emulsificação de temperatura de inversão de fase também pode representar uma abordagem alternativa de baixa energia para a síntese de NLCs. Neste processo a desidratação dos grupos cabeça polares dos lipídeos anfifílicos pela temperatura induz a mudanças na curvatura interfacial, assim, leva à formação de estruturas com curvatura negativa (TAN *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, as NLCs cúbicas e hexagonais foram investigadas como plataforma de entrega de medicamentos por diferentes vias, incluindo a via oral, ocular, nasal, pulmonar, periodontal, intravenosa, vaginal, tópica e transdérmica (MO; MILLERET; NAGARAJ, 2017; ZHAI *et al.*, 2019). Em particular, na via tópica, a entrega bem-sucedida de moléculas bioativas através da pele usando NLCs resulta de sua semelhança estrutural única com as microestruturas da pele, o que favorece a fácil difusão através do estrato córneo. Uma série de estudos foram revisados por Silvestrini *et al.* (2020), com destaque para a entrega cutânea de quimioterápicos, fotossensibilizadores, hormônios, anti-inflamatórios, agentes anti-aging e vacinas veiculados em mesofases a granel e/ou pelas NLCs (SILVESTRINI *et al.*, 2020).

A arquitetura altamente ordenada de canais de água através da matriz lipídica das NLCs e uma grande área de superfície externa fornecem uma plataforma ideal para o encapsulamento de moléculas lipofílicas, hidrofílicas e anfifílicas. Além disso, a mesoestrutura interna pode ser também modulada por meio de gatilhos físico-químicos, como temperatura, pressão, presença de aditivos, pH e composição lipídica e aquosa, promovendo modificações na encapsulação ou liberação de fármacos (ZABARA; MEZZENGA, 2014; FONG *et al.*, 2016; HUANG; GUI, 2018). Modificações estruturais com lipídeos e polímeros responsivos a biosinais específicos em microambientes celulares/ teciduais mostraram fornecer funcionalidades únicas a

essas NLCs (ZABARA; MEZZENGA, 2014; ZHAI *et al.*, 2019; MERTINS; MATHEWS; ANGELOVA, 2020).

Devido a essas multifuncionalidades, as NLCs compõem uma classe inovadora de plataformas de entrega de medicamentos, os chamados “nanocarreadores multifuncionais”. Os carreadores multifuncionais possuem a capacidade de suportar uma carga suficiente de um ou mais fármacos e/ou material genético, e carregá-los até o local-alvo. Na literatura, esses sistemas são divididos em três grandes grupos, sendo: (i) os carregados com fármacos que combinam pelo menos duas funções diferentes; (ii) os que apresentam as mesmas características anteriores, mas que carregam mais de um fármaco ou material genético; e (iii) os que carregam agentes terapêutico e de diagnóstico (teranósticos) (TEO *et al.*, 2016; HARE *et al.*, 2017). Esses sistemas multifuncionais têm sido investigados e aplicados, sobretudo, à terapia de cânceres (CHEN *et al.*, 2012; TEO *et al.*, 2016) e em alguns casos de doenças infecciosas (síndrome da imunodeficiência adquirida e malária) (WALVEKAR; GANNIMANI; GOVENDER, 2019), e na terapia de doenças dermatológicas, como a psoríase, os estudos ainda permanecem limitados (CORADINI *et al.*, 2015; BOAKYE *et al.*, 2017; DOPPALAPUDI; MAHIRA; KHAN, 2017; ROSA *et al.*, 2018; LIN *et al.*, 2019)

Diante do exposto, considerando às implicações e dificuldade do tratamento da psoríase e o advento da nanotecnologia com a possibilidade de desenvolver carreadores multifuncionais, o presente estudo propõe a produção de nanodispersões líquida-cristalinas carregadas de triptolida e siRNA TNF- α visando o tratamento tópico da psoríase. Até a data, o uso da triptolida em nanodispersões líquida-cristalinas não foi reportada na literatura, demonstrando o caráter inovador do estudo e a grande importância de investigar a sua incorporação nesse sistema, além da associação com a terapia anti-sense, advinda das moléculas de siRNA direcionadas à citocina TNF- α . Desta forma, além de implicar em novas estratégias para o tratamento da psoríase, o desenvolvimento deste sistema propõe novos avanços para a tecnologia dos cristais líquidos.

5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados e discussão apresentados, pôde-se concluir que:

- O método analítico em CLAE para quantificação da triptolida foi desenvolvido e validado atendendo os requisitos exigidos por normas nacionais e internacionais de validação;
- As NLCs apresentaram uma média de diâmetro hidrodinâmico de $159,5 \pm 7,5$ nm, PDI abaixo de 0,2, número de partículas por mililitros em torno de 5×10^{12} ; e uma eficiência de encapsulação de 90%;
- A incorporação do PAH a uma concentração de 0,5% proporcionou carga superficial positiva às NLCs (de -46 mV para +11,2 mV) e permitiu efetiva interação eletrostática com o siRNA. A presença da triptolida não alterou a mesoestrutura líquido-cristalina, identificada como hexagonal de acordo com as observações prévias do gel precursor sob microscopia de luz polarizada, e um padrão de espalhamento com picos de espalhamento na proporção $1:\sqrt{3}:\sqrt{4}$ (grupo de simetria $p6mm$ 2D);
- Observações morfológicas por AFM possibilitaram a análise da superfície das NLCs, que apresentaram propriedades mecânicas distintas, como dureza e elasticidade, relacionadas a sua composição lipídica;
- As NLCs contendo ou não a triptolida mantiveram-se estáveis por pelo menos 90 dias a 25 °C;
- Os hidrogéis formados por HEC e dispersões de NLCs foram caracterizados como fluido pseudoplástico não-newtoniano, com aspectos favoráveis à aplicação tópica e espalhabilidade, como adesividade e bioadesividade;
- Estudos em célula vertical de difusão de Franz mostraram que as tanto as NLCs, como o hidrogel contendo as NLCs, apresentaram liberação prolongada da triptolida em um período de 24 h;
- Em membrana biológica, as NLCs apresentaram um maior conteúdo de triptolida retido na epiderme e derme viável comparado ao conteúdo no estrato córneo e permeado, o que foi consideravelmente aumentado com a aplicação do hidrogel contendo as NLCs. Análises qualitativas mostraram a localização das NLCs complexadas com siRNA em regiões da epiderme e derme;

- Estudos em cultura celular mostraram que a presença do PAH conferiu maior citotoxicidade comparado as NLC aniônicas; em relação a triptolida, as NLCs atenuaram seus efeitos tóxicos (aumento de 3 vezes do IC₅₀ em relação à triptolida livre); mas ainda assim, a sua presença foi um fator de toxicidade para as células;
- As NLCs apresentaram rápida internalização celular, atingindo níveis acima de 80% após 6 horas de incubação; sendo possível a sua visualização por toda região citoplasmática e perinuclear. Os estudos com inibidores químicos de vias endocíticas revelaram que a internalização das NLCs é governada principalmente por macropinocitose e endocitose mediada por caveolina; e durante o tráfico intracelular ocorre escape endossomal após 6 h de incubação das células com as NLCs;
- Em cultura de monócitos primários humanos a exposição concomitante das NLCs multifuncionais com LPS diminui significativamente os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e TGF- β 1. Para TNF- α e IL-6, o tratamento multifuncional exibiu efeitos sinérgicos, enquanto que para IL-1 β e TGF- β 1, a combinação dos agentes indicou um efeito aditivo. No segundo protocolo experimental, o tratamento com as NLCs multifuncionais após prévia estimulação com LPS, resultou na diminuição dos níveis de TNF- α , indicando um efeito sinérgico; enquanto que para as outras citocinas, o tratamento multifuncional resultou em um efeito aditivo;
- A veiculação da triptolida e de siRNA TNF- α nas NLCs proporcionou aumento da atividade (diminuição dos níveis de TNF- α , IL-1 β e 2 TGF- β 1) e silenciamento gênico (redução acentuada dos níveis de TNF- α , IL-1 β e TGF- β 10) quando comparados as suas aplicações isoladas e ao controle de NLC sem estes agentes terapêuticos.

Desta forma, pode-se concluir que as NLCs produzidas com monoleína, ácido oleico e PAH apresentaram características físicas, químicas e biológicas que as tornam um sistema carreador promissor para a co-veiculação de triptolida e siRNA visando a aplicação tópica desses agentes no tratamento da psoríase, e outras doenças cutâneas de ordem inflamatória. As NLCs foram capazes de superar as barreiras da administração tópica, e capazes de carregar a triptolida no seu interior lipídico, e externamente a presença de carga residual positiva advinda do PAH

permitiu a interação eletrostática com siRNA, e desta forma, proporcionaram a co-entrega desses dois agentes terapêuticos. Além disso, as altas taxas de internalização, e a capacidade de escape endo-lisossomal, com liberação eficiente de seu conteúdo, contribuíram fortemente para que fossem alcançados efeitos moduladores sobre a produção de mediadores inflamatórios presentes nos processos psoriáticos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-BAR, H. M.; EL BASSET SANAD, R. A. Endocytic pathways of optimized resveratrol cubosomes capturing into human hepatoma cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 93, p. 561–569, set. 2017.
- ADAIR, A.; BERRY, J.; MCGREAL, S. Valuation of residential property: analysis of participant behaviour. **Journal of Property Valuation and Investment**, v. 14, n. 1, p. 20–35, mar. 1996.
- AIN, Q. U. et al. Gene Delivery to the Skin – How Far Have We Come? **Trends in Biotechnology**, p. 1–14, ago. 2020.
- AKBAR, S. et al. Phytantriol based smart nano-carriers for drug delivery applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, p. 31–42, 2017.
- ALBANESE, A.; TANG, P. S.; CHAN, W. C. W. The Effect of Nanoparticle Size, Shape, and Surface Chemistry on Biological Systems. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 14, n. 1, p. 1–16, 15 ago. 2012.
- ALJUFFALI, I. A.; LIN, Y. K.; FANG, J. Y. Noninvasive approach for enhancing small interfering RNA delivery percutaneously. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 13, n. 2, p. 265–280, 2016.
- AMAR-YULI, I. et al. Hexosome and hexagonal phases mediated by hydration and polymeric stabilizer. **Langmuir**, v. 23, n. 7, p. 3637–3645, 2007.
- AMERES, S. L.; MARTINEZ, J.; SCHROEDER, R. Molecular Basis for Target RNA Recognition and Cleavage by Human RISC. **Cell**, v. 130, n. 1, p. 101–112, jul. 2007.
- ANDREOZZI, P. et al. Exploring the pH Sensitivity of Poly(allylamine) Phosphate Supramolecular Nanocarriers for Intracellular siRNA Delivery. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 44, p. 38242–38254, 8 nov. 2017.
- ANGELOVA, A. et al. Advances in structural design of lipid-based nanoparticle carriers for delivery of macromolecular drugs, phytochemicals and anti-tumor agents. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 249, n. March, p. 331–345, 2017.
- ANVISA. Resolução De Diretoria Colegiada - RDC Nº 45, De 09 De Agosto De 2012. **Diário Oficial da União**, 2012.
- ASTOLFI, P. et al. Lyotropic Liquid-Crystalline Nanosystems as Drug Delivery Agents for 5-Fluorouracil: Structure and Cytotoxicity. **Langmuir**, v. 33, n. 43, p. 12369–12378, 2017.
- BADIE, H.; ABBAS, H. Novel small self-assembled resveratrol-bearing cubosomes and hexosomes: preparation, characterization, and ex vivo permeation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 12, p. 2013–2025, 2018.
- BELLEFROID, C. et al. Lipid gene nanocarriers for the treatment of skin diseases: Current state-of-the-art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 137, n. January, p. 95–111, abr. 2019.
- BIBI, N.; AHMED, N.; KHAN, G. M. **Chapter 21 - Nanostructures in transdermal drug delivery systems**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.
- BOAKYE, C. H. A. et al. Novel amphiphilic lipid augments the co-delivery of erlotinib and IL36 siRNA into the skin for psoriasis treatment. **Journal of Controlled Release**, v. 246, p. 120–132, 2017.
- BOCHEŃSKA, K. et al. Models in the Research Process of Psoriasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 2514, 2017.
- BODRATTI, A. M.; ALEXANDRIDIS, P. Formulation of poloxamers for drug delivery. **Journal**

of **Functional Biomaterials**, v. 9, n. 1, 2018.

BOEHNCKE, W. H.; SCHÖN, M. P. Psoriasis. **The Lancet**, v. 386, n. 9997, p. 983–994, 2015.

BOHR, A. et al. Anti-Inflammatory Effect of Anti-TNF- α SiRNA Cationic Phosphorus Dendrimer Nanocomplexes Administered Intranasally in a Murine Acute Lung Injury Model. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 8, p. 2379–2388, 2017.

BOLEAN, M. et al. Topographic analysis by atomic force microscopy of proteoliposomes matrix vesicle mimetics harboring TNAP and AnxA5. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1859, n. 10, p. 1911–1920, out. 2017.

BOLTE, S.; CORDELIÈRES, F. P. A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy. **Journal of Microscopy**, v. 224, n. 3, p. 213–232, dez. 2006.

BOYD, B. J. et al. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1–2, p. 218–226, 2006.

BOYD, B. J. et al. Self-assembled geometric liquid-crystalline nanoparticles imaged in three dimensions: Hexosomes are not necessarily flat hexagonal prisms. **Langmuir**, v. 23, n. 25, p. 12461–12464, 2007.

CAILLAUD, M.; EL MADANI, M.; MASSAAD-MASSADE, L. Small interfering RNA from the lab discovery to patients' recovery. **Journal of Controlled Release**, v. 321, n. February, p. 616–628, maio 2020.

CALAUTTI, E.; AVALLE, L.; POLI, V. Psoriasis: A STAT3-centric view. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, 2018.

CALDORERA-MOORE, M. et al. Designer nanoparticles: incorporating size, shape and triggered release into nanoscale drug carriers. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 7, n. 4, p. 479–495, 23 abr. 2010.

CALIXTO, L. S.; INFANTE, V. H. P.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Design and Characterization of Topical Formulations: Correlations Between Instrumental and Sensorial Measurements. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 4, p. 1512–1519, 20 maio 2018.

CAMPOS, P. M. et al. Liquid crystalline nanodispersion functionalized with cell-penetrating peptides improves skin penetration and anti-inflammatory effect of lipoic acid after in vivo skin exposure to UVB radiation. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 10, n. 6, p. 1810–1828, 16 dez. 2020.

CANTON, I.; BATTAGLIA, G. Endocytosis at the nanoscale. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2718, 2012.

CARRASQUILLO, O. Y. et al. Treatment of erythrodermic psoriasis with biologics: A systematic review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, p. 1–8, abr. 2020.

CASTELA, E. et al. Topical corticosteroids in plaque psoriasis: A systematic review of efficacy and treatment modalities. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 26, n. SUPPL. 3, p. 36–46, 2012.

CERUTTI, H.; CASAS-MOLLANO, J. A. On the origin and functions of RNA-mediated silencing: from protists to man. **Current Genetics**, v. 50, n. 2, p. 81–99, 12 ago. 2006.

CHAFIDZ, A. et al. Atomic Force Microscopy, thermal, viscoelastic and mechanical properties of HDPE/CaCO₃ nanocomposites. **Journal of Polymer Research**, v. 19, n. 4, p. 9860, 30 abr. 2012.

CHANG, X. L. et al. High-performance liquid chromatography determination of triptolide in vitro permeation studies. **Analytica Chimica Acta**, v. 534, n. 2, p. 215–221, 2005.

- CHAUDHARY, K. K.; KANNOJIA, P.; MISHRA, N. Liquid Crystal Systems in Drug Delivery. n. July, p. 217–243, 2016.
- CHAZOTTE, B. Labeling Mitochondria with Rhodamine 123. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2011, n. 7, p. pdb.prot5640-pdb.prot5640, 1 jul. 2011.
- CHEN, C.-Y. et al. Oleic acid-loaded nanostructured lipid carrier inhibits neutrophil activities in the presence of albumin and alleviates skin inflammation. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 14, p. 6539–6553, ago. 2019.
- CHEN, G. et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of triptolide-loaded liposome hydrogel patch under microneedles on rats with collagen-induced arthritis. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 5, n. 6, p. 569–576, nov. 2015.
- CHEN, H. et al. A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. **Journal of Controlled Release**, v. 98, n. 3, p. 427–436, 2004.
- CHEN, H. et al. Hydrogel-thickened microemulsion for topical administration of drug molecule at an extremely low concentration. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 341, n. 1–2, p. 78–84, 2007.
- CHEN, H. et al. Co-delivery Strategies Based on Multifunctional Nanocarriers for Cancer Therapy. **Current Drug Metabolism**, v. 13, n. 8, p. 1087–1096, 1 set. 2012.
- CHEN, J. G.; LIU, Y. F.; GAO, T. W. Preparation and anti-inflammatory activity of triptolide ethosomes in an erythema model. **Journal of Liposome Research**, v. 20, n. 4, p. 297–303, 2010.
- CHEN, L. et al. Triptolide-loaded microemulsion-based hydrogels: physical properties and percutaneous permeability. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 3, n. 3, p. 185–192, 2013.
- CHEN, S. R. et al. A mechanistic overview of triptolide and celastrol, natural products from *Tripterygium wilfordii* Hook F. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. FEB, p. 1–13, 2018.
- CHEN, Y.; MA, P.; GUI, S. Cubic and hexagonal liquid crystals as drug delivery systems. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- CHENG, J. et al. Structure–Function Correlation of Chloroquine and Analogues as Transgene Expression Enhancers in Nonviral Gene Delivery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 22, p. 6522–6531, nov. 2006.
- CHIRICOZZI, A. et al. Treatment of psoriasis with topical agents: Recommendations from a Tuscany Consensus. **Dermatologic Therapy**, v. 30, n. 6, p. 1–10, 2017.
- CHIRICOZZI, A. et al. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 179, 8 jan. 2018.
- CHOU, T.-C. Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. **Pharmacological Reviews**, v. 58, n. 3, p. 621–681, set. 2006.
- CHOUNTOULESI, M. et al. Cubic lyotropic liquid crystals as drug delivery carriers: Physicochemical and morphological studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 550, n. 1–2, p. 57–70, 2018.
- CHU, S.; TANG, C.; YIN, C. Effects of mannose density on invitro and invivo cellular uptake and RNAi efficiency of polymeric nanoparticles. **Biomaterials**, v. 52, n. 1, p. 229–239, 2015.
- CIECHANOWICZ, P. et al. JAK-inhibitors in dermatology: current evidence and future applications. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 0, n. 0, p. 000, 2018.
- CLARES, B. et al. Nanoemulsions (NEs), liposomes (LPs) and solid lipid nanoparticles (SLNs) for retinyl palmitate: Effect on skin permeation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1–2, p. 591–598, out. 2014.

- CLARK, R. A. Misbehaving macrophages in the pathogenesis of psoriasis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 8, p. 2084–2087, 1 ago. 2006.
- CONNOR, V. Anti-TNF therapies: a comprehensive analysis of adverse effects associated with immunosuppression. **Rheumatology International**, v. 31, n. 3, p. 327–337, 16 mar. 2011.
- CONRAD, C.; GILLIET, M. Psoriasis: from Pathogenesis to Targeted Therapies. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 54, n. 1, p. 102–113, 2018.
- CONSTANTINESCU, C. A. et al. Targeted Transfection Using PEGylated Cationic Liposomes Directed Towards P-Selectin Increases siRNA Delivery into Activated Endothelial Cells. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 1, p. 47, 21 jan. 2019.
- CORADINI, K. et al. A novel approach to arthritis treatment based on resveratrol and curcumin co-encapsulated in lipid-core nanocapsules: In vivo studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, p. 163–170, out. 2015.
- COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123–133, maio 2001.
- DAVIS, M. E. et al. Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. **Nature**, v. 464, n. 7291, p. 1067–1070, 21 abr. 2010.
- DE CAMPO, L. et al. Reversible Phase Transitions in Emulsified Nanostructured Lipid Systems. **Langmuir**, v. 20, n. 13, p. 5254–5261, jun. 2004.
- DELIĆ, D. et al. Integrated microRNA/mRNA expression profiling of the skin of psoriasis patients. **Journal of Dermatological Science**, v. 97, n. 1, p. 9–20, jan. 2020.
- DENG, Y.; CHANG, C.; LU, Q. The Inflammatory Response in Psoriasis: a Comprehensive Review. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 50, n. 3, p. 377–389, 2016.
- DEPIERI, L. V. et al. RNAi mediated IL-6 in vitro knockdown in psoriasis skin model with topical siRNA delivery system based on liquid crystalline phase. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 105, p. 50–58, 2016.
- DESAI, P. R. et al. Topical delivery of anti-TNF α siRNA and capsaicin via novel lipid-polymer hybrid nanoparticles efficiently inhibits skin inflammation in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 170, n. 1, p. 51–63, ago. 2013.
- DESFRAÇOIS, C.; AUZÉLY, R.; TEXIER, I. Lipid Nanoparticles and Their Hydrogel Composites for Drug Delivery: A Review. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 4, p. 118, 1 nov. 2018.
- DESHPANDE, S.; SINGH, N. Influence of Cubosome Surface Architecture on Its Cellular Uptake Mechanism. **Langmuir**, v. 33, n. 14, p. 3509–3516, 2017.
- DESMET, E. et al. An elastic liposomal formulation for RNAi-based topical treatment of skin disorders: Proof-of-concept in the treatment of psoriasis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 500, n. 1–2, p. 268–274, 2016.
- DI SILVIO, D. et al. Self-assembly of poly(allylamine)/siRNA nanoparticles, their intracellular fate and siRNA delivery. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 557, p. 757–766, 1 dez. 2019.
- DIERKING, I.; AL-ZANGANA, S. Lyotropic Liquid Crystal Phases from Anisotropic Nanomaterials. **Nanomaterials**, v. 7, n. 10, p. 305, 1 out. 2017.
- DING, B. et al. Triptolide and celastrol loaded silk fibroin nanoparticles show synergistic effect against human pancreatic cancer cells. **Nanoscale**, v. 9, n. 32, p. 11739–11753, 2017.
- DONAHUE, N. D.; ACAR, H.; WILHELM, S. Concepts of nanoparticle cellular uptake, intracellular trafficking, and kinetics in nanomedicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 143, p. 68–96, mar. 2019.

- DONG, Y. Da; BOYD, B. J. Applications of X-ray scattering in pharmaceutical science. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, n. 1–2, p. 101–111, 2011.
- DONG, Y.; SIEGWART, D. J.; ANDERSON, D. G. Strategies, design, and chemistry in siRNA delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 144, p. 133–147, abr. 2019.
- DOPPALAPUDI, S.; MAHIRA, S.; KHAN, W. Development and in vitro assessment of psoralen and resveratrol co-loaded ultradeformable liposomes for the treatment of vitiligo. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 174, n. July, p. 44–57, 2017.
- DUNN, K. W.; KAMOCKA, M. M.; MCDONALD, J. H. A Practical Guide to Evaluating Colocalization in Biological Microscopy. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 300, n. 4, p. C723–C742, abr. 2011.
- DURYSMANOV, M.; REINEKE, J. Non-viral Delivery of Nucleic Acids: Insight Into Mechanisms of Overcoming Intracellular Barriers. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. AUG, p. 1–15, 21 ago. 2018.
- DYETT, B. P. et al. Fusion dynamics of cubosome nanocarriers with model cell membranes. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 4492, 3 dez. 2019.
- DYKXHOORN, D. M.; NOVINA, C. D.; SHARP, P. A. Killing the messenger: short RNAs that silence gene expression. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, n. 6, p. 457–467, jun. 2003.
- EL-SAYED, A.; HARASHIMA, H. Endocytosis of Gene Delivery Vectors: From Clathrin-dependent to Lipid Raft-mediated Endocytosis. **Molecular Therapy**, v. 21, n. 6, p. 1118–1130, jun. 2013.
- ELBASHIR, S. M. et al. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. **Nature**, v. 411, n. 6836, p. 494–498, maio 2001.
- ERMER, J. Validation in pharmaceutical analysis. Part I: An integrated approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, n. 5–6, p. 755–767, mar. 2001.
- EUROPEAN COMMISSION. **SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation 10th revision**. [s.l.: s.n.]v. 1602
- FANG, J.-Y. et al. Cationic additives in nanosystems activate cytotoxicity and inflammatory response of human neutrophils: lipid nanoparticles versus polymeric nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, p. 371, jan. 2015.
- FDA. **Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics**. [s.l.: s.n.]
- FIRE, A. et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 391, n. 6669, p. 806–811, fev. 1998.
- FONG, W.-K. et al. Responsive self-assembled nanostructured lipid systems for drug delivery and diagnostics. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 484, p. 320–339, dez. 2016.
- FONG, W.-K.; HANLEY, T.; BOYD, B. J. Stimuli responsive liquid crystals provide “on-demand” drug delivery in vitro and in vivo. **Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society**, v. 135, n. 3, p. 218–26, maio 2009.
- FONSECA-SANTOS, B. et al. An effective mosquito-repellent topical product from liquid crystal-based tea tree oil. **Industrial Crops and Products**, v. 128, n. August 2018, p. 488–495, 2019.
- FOTIADOU, C. et al. Targeting IL-23 in psoriasis: current perspectives. **Psoriasis: Targets and Therapy**, v. Volume 8, p. 1–5, 2018.
- GABR, M. M.; MORTADA, S. M.; SALLAM, M. A. Hexagonal Liquid Crystalline

- Nanodispersions Proven Superiority for Enhanced Oral Delivery of Rosuvastatin: In Vitro Characterization and In Vivo Pharmacokinetic Study. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 10, p. 3103–3112, out. 2017.
- GARBOVSKIY, Y. A.; GLUSHCHENKO, A. V. Liquid Crystalline Colloids of Nanoparticles. In: **Solid State Physics - Advances in Research and Applications**. [s.l.: s.n.]62p. 1–74.
- GASPAR, L. .; MAIA CAMPOS, P. M. B. . Rheological behavior and the SPF of sunscreens. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, n. 1, p. 35–44, jan. 2003.
- GAZGA-URIESTE, C. et al. Physicochemical characterization and thermal behavior of hexosomes containing ketoconazole as potential topical antifungal delivery system. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 45, n. 1, p. 168–176, 2019.
- GHICA, M. et al. Flow and Thixotropic Parameters for Rheological Characterization of Hydrogels. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 786, 16 jun. 2016.
- GILBERT, L. et al. Rheological and textural characterization of cosmetic emulsions containing natural and synthetic polymers: relationships between both data. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 421, p. 150–163, mar. 2013.
- GU, Y. et al. Lipid nanoparticles loading triptolide for transdermal delivery: mechanisms of penetration enhancement and transport properties. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 68, 15 dez. 2018.
- GU, Y. et al. Transdermal drug delivery of triptolide-loaded nanostructured lipid carriers: Preparation, pharmacokinetic, and evaluation for rheumatoid arthritis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 554, p. 235–244, jan. 2019.
- GUO, S. et al. Enhanced Gene Delivery and siRNA Silencing by Gold Nanoparticles Coated with Charge-Reversal Polyelectrolyte. **ACS Nano**, v. 4, n. 9, p. 5505–5511, 28 set. 2010.
- GUSTAFSSON, J. et al. Submicron Particles of Reversed Lipid Phases in Water Stabilized by a Nonionic Amphiphilic Polymer. **Langmuir**, v. 13, n. 26, p. 6964–6971, 1997.
- HAMCZYK, M. R.; VILLA-BELLOSTA, R.; ANDRÉS, V. In Vitro Macrophage Phagocytosis Assay. In: ANDRÉS, V.; DORADO, B. (Ed.). *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York, 2015. 1339p. 235–246.
- HAN, G. et al. A Role for TGF β Signaling in the Pathogenesis of Psoriasis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 130, n. 2, p. 371–377, fev. 2010.
- HAN, L. et al. Enhanced siRNA Delivery and Silencing Gold–Chitosan Nanosystem with Surface Charge-Reversal Polymer Assembly and Good Biocompatibility. **ACS Nano**, v. 6, n. 8, p. 7340–7351, 28 ago. 2012a.
- HAN, L.; TANG, C.; YIN, C. Dual-targeting and pH/redox-responsive multi-layered nanocomplexes for smart co-delivery of doxorubicin and siRNA. **Biomaterials**, v. 60, p. 42–52, ago. 2015.
- HAN, R. et al. Triptolide in the treatment of psoriasis and other immune-mediated inflammatory diseases. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 74, n. 3, p. 424–436, 2012b.
- HARE, J. I. et al. Challenges and strategies in anti-cancer nanomedicine development: An industry perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 108, p. 25–38, 2017.
- HIMMELSTOSS, S. F.; HIRSCH, T. Long-Term Colloidal and Chemical Stability in Aqueous Media of NaYF₄ -Type Upconversion Nanoparticles Modified by Ligand-Exchange. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 36, n. 10, p. 1900235, 5 out. 2019.
- HOLSTEIN, J. et al. Anthralin modulates the expression pattern of cytokeratins and antimicrobial peptides by psoriatic keratinocytes. **Journal of Dermatological Science**, v. 87, n. 3, p. 236–245, 2017.

- HOU, W.; LIU, B.; XU, H. Triptolide: Medicinal chemistry, chemical biology and clinical progress. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 176, p. 378–392, ago. 2019.
- HOYLE, G. W. et al. Development and assessment of countermeasure formulations for treatment of lung injury induced by chlorine inhalation. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 298, p. 9–18, maio 2016.
- HUANG, Y.; GUI, S. Factors affecting the structure of lyotropic liquid crystals and the correlation between structure and drug diffusion. **RSC Advances**, v. 8, n. 13, p. 6978–6987, 2018.
- HUANG, Y.; GUO, J.; GUI, S. Orally targeted galactosylated chitosan poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles loaded with TNF- α siRNA provide a novel strategy for the experimental treatment of ulcerative colitis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 125, n. June, p. 232–243, 2018.
- HURLER, J. et al. Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, n. 1, p. 180–188, 5 jul. 2012.
- HYDE, S. T. Identification of Lyotropic Liquid Crystalline Mesophases. **Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry, Volumes 1-2**, p. 299–321, 2001.
- ICH; GUIDELINE, H. T. Evaluation of stability data Q1E. In: **Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development: Regulations, Methodologies, and Best Practices**. [s.l.: s.n.]p. 263–283.
- ICH, H. T. G. **Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)**. [s.l.: s.n.]v. 1994
- ITA, K. Polyplexes for gene and nucleic acid delivery: Progress and bottlenecks. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 150, n. December 2019, p. 105358, jul. 2020.
- JABŁONOWSKA, E. et al. Lipid membranes exposed to dispersions of phytantriol and monoolein cubosomes: Langmuir monolayer and HeLa cell membrane studies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1865, n. 1, p. 129738, jan. 2021.
- JAIN, S. et al. Improved Oral Bioavailability, Therapeutic Efficacy, and Reduced Toxicity of Tamoxifen-Loaded Liquid Crystalline Nanoparticles. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 1, p. 460–469, 2017.
- JAIN, S. et al. Comparative assessment of efficacy and safety potential of multifarious lipid based Tacrolimus loaded nanoformulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, n. March, p. 96–104, 2019.
- JAMES, P. J. et al. Interpretation of Contrast in Tapping Mode AFM and Shear Force Microscopy. A Study of Nafion. **Langmuir**, v. 17, n. 2, p. 349–360, jan. 2001.
- JEE, M. H. et al. $\gamma\delta$ T cells and inflammatory skin diseases. **Immunological Reviews**, v. 298, n. July, p. imr.12913, 27 ago. 2020.
- JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; BROWN, A. F. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 151, n. 2, p. 223–233, 26 maio 1997.
- KABASHIMA, K. et al. The immunological anatomy of the skin. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 1, p. 19–30, 14 jan. 2019.
- KACZMAREK, J. C.; KOWALSKI, P. S.; ANDERSON, D. G. Advances in the delivery of RNA therapeutics: From concept to clinical reality. **Genome Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1–16, 2017.
- KARGAARD, A.; SLUIJTER, J. P. G.; KLUMPERMAN, B. Polymeric siRNA gene delivery – transfection efficiency versus cytotoxicity. **Journal of Controlled Release**, v. 316, n. November, p. 263–291, dez. 2019.

- KHALIL, S. et al. Retinoids: a journey from the molecular structures and mechanisms of action to clinical uses in dermatology and adverse effects. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 28, n. 8, p. 684–696, 2017.
- KHURANA, S.; BEDI, P. M. S.; JAIN, N. K. Preparation and evaluation of solid lipid nanoparticles based nanogel for dermal delivery of meloxicam. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 175–176, p. 65–72, out. 2013.
- KIM, B.; PARK, J.; SAILOR, M. J. Rekindling RNAi Therapy: Materials Design Requirements for In Vivo siRNA Delivery. **Advanced Materials**, v. 31, n. 49, p. 1903637, 30 dez. 2019.
- KIM, H.; LEAL, C. Cuboplexes: Topologically Active siRNA Delivery. **ACS Nano**, v. 9, n. 10, p. 10214–10226, 27 out. 2015.
- KOYNOVA, R.; TENCHOV, B.; MACDONALD, R. C. Nonlamellar Phases in Cationic Phospholipids, Relevance to Drug and Gene Delivery. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 1, n. 3, p. 130–138, 2015.
- KRIEG, B. et al. New Techniques to Assess In Vitro Release of siRNA from Nanoscale Polyplexes. **Pharmaceutical Research**, v. 32, n. 6, p. 1957–1974, 9 jun. 2015.
- KULKARNI, C. V. et al. Monoolein: A magic lipid? **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 8, p. 3004–3021, 2011.
- LADEMANN, J. et al. The tape stripping procedure – evaluation of some critical parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, n. 2, p. 317–323, jun. 2009.
- LANCELOT, A.; SIERRA, T.; SERRANO, J. L. Nanostructured liquid-crystalline particles for drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, n. 4, p. 547–564, 2014.
- LEAL, C. et al. Highly Efficient Gene Silencing Activity of siRNA Embedded in a Nanostructured Gyroid Cubic Lipid Matrix. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 47, p. 16841–16847, dez. 2010.
- LEAL, C. et al. Nanogyroids Incorporating Multivalent Lipids: Enhanced Membrane Charge Density and Pore Forming Ability for Gene Silencing. **Langmuir**, v. 27, n. 12, p. 7691–7697, 21 jun. 2011.
- LEE, C. H.; MOTURI, V.; LEE, Y. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. **Journal of Controlled Release**, v. 136, n. 2, p. 88–98, jun. 2009.
- LEEKUMJORN, S. et al. The role of fatty acid unsaturation in minimizing biophysical changes on the structure and local effects of bilayer membranes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1788, n. 7, p. 1508–1516, jul. 2009.
- LI, B. et al. The role of Th17 cells in psoriasis. **Immunologic Research**, p. 62–81, 22 ago. 2020a.
- LI, H.; WEN, X. S.; DI, W. In vitro and in vivo evaluation of Triptolide-loaded Pluronic P105 polymeric micelles. **Arzneimittel-Forschung/Drug Research**, v. 62, n. 7, p. 340–344, 2012.
- LI, J.-C. et al. Self-Assembled Cubic Liquid Crystalline Nanoparticles for Transdermal Delivery of Paeonol. **Medical Science Monitor**, v. 21, p. 3298–3310, 2015.
- LI, J.; HAO, J. Treatment of Neurodegenerative Diseases with Bioactive Components of *Tripterygium wilfordii*. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 47, n. 4, p. 769–785, 2019.
- LI, P. et al. Synergistic effect of all-trans-retinal and triptolide encapsulated in an inflammation-targeted nanoparticle on collagen-induced arthritis in mice. **Journal of Controlled Release**, v. 319, n. August 2019, p. 87–103, mar. 2020b.
- LI, X. et al. Pharmacokinetics and tissue distribution study in mice of triptolide-loaded lipid

emulsion and accumulation effect on pancreas. **Drug Delivery**, v. 23, n. 4, p. 1344–1354, 2016.

LI, X. J.; JIANG, Z. Z.; ZHANG, L. Y. Triptolide: Progress on research in pharmacodynamics and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 1, p. 67–79, 2014.

LIBSTER, D.; ASERIN, A.; GARTI, N. Interactions of biomacromolecules with reverse hexagonal liquid crystals: Drug delivery and crystallization applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 356, n. 2, p. 375–386, 2011.

LIN, A. J. et al. Three-Dimensional Imaging of Lipid Gene-Carriers: Membrane Charge Density Controls Universal Transfection Behavior in Lamellar Cationic Liposome-DNA Complexes. **Biophysical Journal**, v. 84, n. 5, p. 3307–3316, maio 2003.

LIN, C.-Y. et al. Oleic acid as the active agent and lipid matrix in cilomilast-loaded nanocarriers to assist PDE4 inhibition of activated neutrophils for mitigating psoriasis-like lesions. **Acta Biomaterialia**, v. 90, p. 350–361, maio 2019.

LIN, C. et al. Dual-ligand modified liposomes provide effective local targeted delivery of lung-cancer drug by antibody and tumor lineage-homing cell-penetrating peptide. **Drug Delivery**, v. 25, n. 1, p. 256–266, 15 jan. 2018a.

LIN, S.-H. et al. Treatment with TNF- α inhibitor rectifies M1 macrophage polarization from blood CD14⁺ monocytes in patients with psoriasis independent of STAT1 and IRF-1 activation. **Journal of Dermatological Science**, v. 91, n. 3, p. 276–284, set. 2018b.

LING, D. et al. pH-Sensitive Nanoformulated Triptolide as a Targeted Therapeutic Strategy for Hepatocellular Carcinoma. **ACS Nano**, v. 8, n. 8, p. 8027–8039, 26 ago. 2014.

LIU, F. et al. Current Transport Systems and Clinical Applications for Small Interfering RNA (siRNA) Drugs. **Molecular Diagnosis & Therapy**, v. 22, n. 5, p. 551–569, 20 out. 2018a.

LIU, J. et al. Synergistic combination therapy of lung cancer using paclitaxel- and triptolide-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles. **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 12, p. 3199–3209, set. 2018b.

LIU, M. et al. Anti-inflammatory effects of triptolide loaded poly(D,L-lactic acid) nanoparticles on adjuvant-induced arthritis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 219–225, 2005.

LIU, M. et al. Effect of Poly(D, L-lactic acid) Nanoparticles as Triptolide Carrier on Abating Rats Renal Toxicity by NMR-Based Metabolic Analysis. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 8, n. 7, p. 3493–3499, 2008.

LIU, Q. Triptolide and its expanding multiple pharmacological functions. **International Immunopharmacology**, v. 11, n. 3, p. 377–383, 2011.

LIU, Q. et al. Sensitivity of Nanostructure in Charged Cubosomes to Phase Changes Triggered by Ionic Species in Solution. **Langmuir**, v. 29, n. 46, p. 14265–14273, 19 nov. 2013.

LOPES, L. B. et al. Reverse hexagonal phase nanodispersion of monoolein and oleic acid for topical delivery of peptides: in vitro and in vivo skin penetration of cyclosporin A. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 6, p. 1332–1342, 2006.

LOPES, L. B.; SPERETTA, F. F. F.; BENTLEY, M. V. L. B. Enhancement of skin penetration of vitamin K using monoolein-based liquid crystalline systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 32, n. 3, p. 209–215, nov. 2007.

MA, Y. et al. Labeling and long-term tracking of bone marrow mesenchymal stem cells in vitro using NaYF₄:Yb³⁺, Er³⁺ upconversion nanoparticles. **Acta Biomaterialia**, v. 42, p. 199–208, 2016.

MADHESWARAN, T. et al. Enhanced Topical Delivery of Finasteride Using Glyceryl

Monooleate-Based Liquid Crystalline Nanoparticles Stabilized by Cremophor Surfactants. **AAPS PharmSciTech**, v. 15, n. 1, p. 44–51, 2014.

MAHIL, S. K.; CAPON, F.; BARKER, J. N. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. **Seminars in Immunopathology**, v. 38, n. 1, p. 11–27, 16 jan. 2016.

MAITRA, U. et al. Molecular Mechanisms Responsible for the Selective and Low-Grade Induction of Proinflammatory Mediators in Murine Macrophages by Lipopolysaccharide. **The Journal of Immunology**, v. 189, n. 2, p. 1014–1023, 15 jul. 2012.

MALCOLM, D. W. et al. The Effects of Biological Fluids on Colloidal Stability and siRNA Delivery of a pH-Responsive Micellar Nanoparticle Delivery System. **ACS Nano**, v. 12, n. 1, p. 187–197, 23 jan. 2018.

MALECIC, N.; YOUNG, H. Tacrolimus for the management of psoriasis: clinical utility and place in therapy. **Psoriasis (Auckland, N.Z.)**, v. 6, p. 153–163, 2016.

MANAIA, E. B. et al. Physicochemical characterization of drug nanocarriers. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 4991–5011, 2017.

MANSOUR, M. et al. Novel polyglycerol-dioleate based cubosomal dispersion with tailored physical characteristics for controlled delivery of ondansetron. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 156, p. 44–54, 2017.

MATTA, R. et al. Triptolide induces anti-inflammatory cellular responses. **American Journal of Translational Research**, v. 1, n. 3, p. 267–282, 2009.

MEI, L. et al. Injectable in situ forming gel based on lyotropic liquid crystal for persistent postoperative analgesia. **Acta biomaterialia**, v. 67, p. 99–110, 2018.

MEI, Z. et al. Solid lipid nanoparticle and microemulsion for topical delivery of triptolide. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 56, n. 2, p. 189–196, 2003.

MEI, Z. et al. Triptolide Loaded Solid Lipid Nanoparticle Hydrogel for Topical Application. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 31, n. 2, p. 161–168, 26 jan. 2005.

MEISTER, G.; TUSCHL, T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. **Nature**, v. 431, n. 7006, p. 343–349, 15 set. 2004.

MERTINS, O.; MATHEWS, P. D.; ANGELOVA, A. Advances in the Design of pH-Sensitive Cubosome Liquid Crystalline Nanocarriers for Drug Delivery Applications. **Nanomaterials**, v. 10, n. 5, p. 963, 18 maio 2020.

MEZZENGA, R. et al. Nature-Inspired Design and Application of Lipidic Lyotropic Liquid Crystals. **Advanced Materials**, v. 31, n. 35, p. 1900818, 20 ago. 2019.

MICHALEK, I. M.; LORING, B.; JOHN, S. M. A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 31, n. 2, p. 205–212, fev. 2017.

MILAK, S.; ZIMMER, A. Glycerol monooleate liquid crystalline phases used in drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 478, n. 2, p. 569–587, jan. 2015.

MISHRAKI-BERKOWITZ, T.; ASERIN, A.; GARTI, N. Structural properties and release of insulin-loaded reverse hexagonal (HII) liquid crystalline mesophase. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 486, p. 184–193, 2017.

MITOV, M. Liquid-Crystal Science from 1888 to 1922: Building a Revolution. **ChemPhysChem**, v. 15, n. 7, p. 1245–1250, maio 2014.

MO, J.; MILLERET, G.; NAGARAJ, M. Liquid crystal nanoparticles for commercial drug delivery. **Liquid Crystals Reviews**, v. 5, n. 2, p. 69–85, jul. 2017.

- MOHYELDIN, S. M.; MEHANNA, M. M.; ELGINDY, N. A. Superiority of liquid crystalline cubic nanocarriers as hormonal transdermal vehicle: comparative human skin permeation-supported evidence. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 13, n. 8, p. 1049–1064, 2 ago. 2016.
- MORITA, A. Current developments in phototherapy for psoriasis. **Journal of Dermatology**, v. 45, n. 3, p. 287–292, 2018.
- MULET, X.; BOYD, B. J.; DRUMMOND, C. J. Advances in drug delivery and medical imaging using colloidal lyotropic liquid crystalline dispersions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 393, n. 1, p. 1–20, 2013.
- MULLINEUX, G. Non-linear least squares fitting of coefficients in the Herschel–Bulkley model. **Applied Mathematical Modelling**, v. 32, n. 12, p. 2538–2551, dez. 2008.
- MURDACA, G. et al. Update upon the infection risk in patients receiving TNF alpha inhibitors. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 18, n. 3, p. 219–229, 4 mar. 2019.
- MURGIA, S. et al. Cubosome formulations stabilized by a dansyl-conjugated block copolymer for possible nanomedicine applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 129, p. 87–94, maio 2015.
- NAZARUK, E. et al. Design and assembly of pH-sensitive lipidic cubic phase matrices for drug release. **Langmuir**, v. 30, n. 5, p. 1383–1390, 2014.
- NAZARUK, E. et al. Lyotropic Cubic Phases for Drug Delivery: Diffusion and Sustained Release from the Mesophase Evaluated by Electrochemical Methods. **Langmuir**, v. 31, n. 46, p. 12753–12761, 2015.
- NEGRINI, R. et al. PH-responsive lyotropic liquid crystals and their potential therapeutic role in cancer treatment. **Chemical Communications**, v. 51, n. 30, p. 6671–6674, 2015.
- NEGRINI, R.; MEZZENGA, R. Diffusion, Molecular Separation, and Drug Delivery from Lipid Mesophases with Tunable Water Channels. **Langmuir**, v. 28, n. 47, p. 16455–16462, 27 nov. 2012.
- NELEMANS, L. C.; GUREVICH, L. Drug Delivery with Polymeric Nanocarriers—Cellular Uptake Mechanisms. **Materials**, v. 13, n. 2, p. 366, 13 jan. 2020.
- NEMATİ, H. et al. Using siRNA-based spherical nucleic acid nanoparticle conjugates for gene regulation in psoriasis. **Journal of Controlled Release**, v. 268, p. 259–268, 2017.
- NESTLE, F. O. et al. Skin immune sentinels in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 10, p. 679–691, 18 out. 2009.
- NETO, C. et al. Imaging Soft Matter with the Atomic Force Microscope: Cubosomes and Hexosomes. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 19, p. 3896–3899, 1999.
- OGAWA, E. et al. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment. **The Journal of Dermatology**, v. 45, n. 3, p. 264–272, mar. 2018.
- OLIVEIRA, R. et al. Treatment for chemical burning using liquid crystalline nanoparticles as an ophthalmic delivery system for pifendone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 568, n. June, p. 118466, 2019.
- ORECCHIONI, M. et al. Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. MAY, p. 1–14, 24 maio 2019.
- PAGANO, C. et al. Bioadhesive polymeric films based on usnic acid for burn wound treatment: Antibacterial and cytotoxicity studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 178, n. March, p. 488–499, jun. 2019.
- PANDI, P. et al. Dendrimer as a new potential carrier for topical delivery of siRNA: A

- comparative study of dendriplex vs. lipoplex for delivery of TNF- α siRNA. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 550, n. 1–2, p. 240–250, 2018.
- PASTOR-FERNÁNDEZ, G.; MARIBLANCA, I. R.; NAVARRO, M. N. Decoding IL-23 Signaling Cascade for New Therapeutic Opportunities. **Cells**, v. 9, n. 9, p. 2044, 7 set. 2020.
- PATEL, S. et al. Brief update on endocytosis of nanomedicines. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 144, p. 90–111, abr. 2019.
- PETRILLI, R. et al. Liquid crystalline nanodispersions functionalized with cell-penetrating peptides for topical delivery of short-interfering RNAs: A proposal for silencing a pro-inflammatory cytokine in cutaneous diseases. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 12, n. 5, p. 1063–1075, 2016.
- PHILIP, H.-M. Liquid Crystal Physics and Materials. **Encyclopedia of Modern Optics**, v. 3, p. 8–11, 2017.
- PRAÇA, F. S. G. et al. Evaluation of critical parameters for in vitro skin permeation and penetration studies using animal skin models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, n. August 2017, p. 121–132, 2018.
- PRAJAPATI, R.; LARSEN, S. W.; YAGHMUR, A. Citrem–phosphatidylcholine nano-self-assemblies: solubilization of bupivacaine and its role in triggering a colloidal transition from vesicles to cubosomes and hexosomes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 21, n. 27, p. 15142–15150, 2019.
- PREMKUMAR, V. et al. MyD88-dependent and independent pathways of Toll-Like Receptors are engaged in biological activity of Triptolide in ligand-stimulated macrophages. **BMC Chemical Biology**, v. 10, n. 1, p. 3, 2010.
- PUERTAS-BARTOLOMÉ, M. et al. Bioadhesive functional hydrogels: Controlled release of catechol species with antioxidant and antiinflammatory behavior. **Materials Science and Engineering: C**, v. 105, p. 110040, dez. 2019.
- QIN, F. et al. A DNA transporter based on mesoporous silica nanospheres mediated with polycation poly(allylamine hydrochloride) coating on mesopore surface. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 90, n. 2, p. 333–338, 2009.
- QIU, H.; CAFFREY, M. The phase diagram of the monoolein/water system: metastability and equilibrium aspects. **Biomaterials**, v. 21, n. 3, p. 223–234, fev. 2000.
- RADAIC, A. et al. Como estudar interações entre nanopartículas e sistemas biológicos. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1236–1244, 15 ago. 2016.
- RAI, R.; ALWANI, S.; BADEA, I. Polymeric Nanoparticles in Gene Therapy: New Avenues of Design and Optimization for Delivery Applications. **Polymers**, v. 11, n. 4, p. 745, 25 abr. 2019.
- RAWAL, M.; SINGH, A.; AMIJI, M. M. Quality-by-Design Concepts to Improve Nanotechnology-Based Drug Development. **Pharmaceutical Research**, v. 36, n. 11, p. 153, 3 nov. 2019.
- REAM, J. A.; LEWIS, L. K.; LEWIS, K. A. Rapid agarose gel electrophoretic mobility shift assay for quantitating protein: RNA interactions. **Analytical Biochemistry**, v. 511, p. 36–41, out. 2016.
- RENDON, A.; SCHÄKEL, K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, p. 1475, 23 mar. 2019.
- RIGON, C. et al. Hydrogel containing silibinin nanocapsules presents effective anti-inflammatory action in a model of irritant contact dermatitis in mice. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 137, n. June, p. 104969, set. 2019.
- RIMEL, J. K.; TAATJES, D. J. The essential and multifunctional TFIID complex. **Protein**

Science, v. 27, n. 6, p. 1018–1037, jun. 2018.

RIOS, F. J.; TOUYZ, R. M.; MONTEZANO, A. C. Isolation and Differentiation of Human Macrophages. In: **Hypertension: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology**. [s.l.: s.n.]1527p. 311–320.

RIVOLTA, I.; PANARITI; MISEROCCHI. The effect of nanoparticle uptake on cellular behavior: disrupting or enabling functions? **Nanotechnology, Science and Applications**, v. 5, n. 1, p. 87, set. 2012.

ROBERTS, M. et al. Topical and cutaneous delivery using nanosystems. **Journal of Controlled Release**, v. 247, p. 86–105, fev. 2017.

RODRIGUES, L. et al. Characterization of Lipid-Based Hexosomes as Versatile Vaccine Carriers. **Molecular Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, p. 3945–3954, 7 nov. 2016.

RODRIGUEZ-VALLECILLO, E.; WOODBURY-FARIÑA, M. A. Dermatological manifestations of stress in normal and psychiatric populations. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 37, n. 4, p. 625–651, 2014.

ROSA, J. et al. Current non-viral siRNA delivery systems as a promising treatment of skin diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 23, p. 2644–2663, ago. 2018.

ROSSETTI, F. C. et al. Analysis of Liquid Crystalline Nanoparticles by Small Angle X-Ray Diffraction: Evaluation of Drug and Pharmaceutical Additives Influence on the Internal Structure. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 7, p. 2849–2857, jul. 2011.

ROSSETTI, F. C. et al. Optimization of protoporphyrin IX skin delivery for topical photodynamic therapy: Nanodispersions of liquid-crystalline phase as nanocarriers. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 83, p. 99–108, fev. 2016.

SALAH, S.; MAHMOUD, A. A.; KAMEL, A. O. Etodolac transdermal cubosomes for the treatment of rheumatoid arthritis: Ex vivo permeation and in vivo pharmacokinetic studies. **Drug Delivery**, v. 24, n. 1, p. 846–856, 2017.

SALAMEH, J. W. et al. Polymer-mediated gene therapy: Recent advances and merging of delivery techniques. **WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 12, n. 2, 2 mar. 2020.

SASHITAL, D. G.; DOUDNA, J. A. Structural insights into RNA interference. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 20, n. 1, p. 90–97, fev. 2010.

SATO, Y. et al. Neutralization of negative charges of siRNA results in improved safety and efficient gene silencing activity of lipid nanoparticles loaded with high levels of siRNA. **Journal of Controlled Release**, v. 284, n. June, p. 179–187, ago. 2018.

SCHOLZ, C.; WAGNER, E. Therapeutic plasmid DNA versus siRNA delivery: Common and different tasks for synthetic carriers. **Journal of Controlled Release**, v. 161, n. 2, p. 554–565, jul. 2012.

SCHÖN, M. P. Adaptive and Innate Immunity in Psoriasis and Other Inflammatory Disorders. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. July, p. 5–9, 26 jul. 2019.

SCHÖN, M. P.; ERPENBECK, L. The Interleukin-23/Interleukin-17 Axis Links Adaptive and Innate Immunity in Psoriasis. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. JUN, p. 1–13, 15 jun. 2018.

SEDDON, J. M.; TEMPLER, R. H. Polymorphism of Lipid-Water Systems. In: [s.l.: s.n.]1p. 97–160.

SEKHON, S. et al. Review of the mechanism of action of coal tar in psoriasis. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 0, n. 0, p. 1–3, 2017.

SELBY, L. I. et al. Nanoescapology: progress toward understanding the endosomal escape of polymeric nanoparticles. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and**

Nanobiotechnology, v. 9, n. 5, p. e1452, set. 2017.

SETTEN, R. L.; ROSSI, J. J.; HAN, S. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 18, n. 6, p. 421–446, 7 jun. 2019.

SHALHOUT, S. Z. et al. Evaluation of the fragility of pivotal trials used to support US Food and Drug Administration approval for plaque psoriasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, p. 1–7, abr. 2020.

SHEN, J. et al. Engineering functional inorganic-organic hybrid systems: Advances in siRNA therapeutics. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 6, p. 1969–1995, 2018.

SHEN, J.; BURGESS, D. J. In vitro dissolution testing strategies for nanoparticulate drug delivery systems: recent developments and challenges. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 3, n. 5, p. 409–415, 24 out. 2013.

SHERIF, S.; BENDAS, E. R.; BADAWY, S. The clinical efficacy of cosmeceutical application of liquid crystalline nanostructured dispersions of alpha lipoic acid as anti-wrinkle. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 86, n. 2, p. 251–259, fev. 2014.

SIEKMANN, B. et al. Preparation and structural investigations of colloidal dispersions prepared from cubic monoglyceride–water phases. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, n. 1–2, p. 33–43, set. 2002.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 418, n. 1, p. 6–12, out. 2011.

SILVA, A. C. et al. Solid lipid nanoparticles (SLN) - based hydrogels as potential carriers for oral transmucosal delivery of Risperidone: Preparation and characterization studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 93, p. 241–248, maio 2012.

SILVESTRI, A. V. P. et al. Advances in lyotropic liquid crystal systems for skin drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 00, n. 00, p. 1–25, 18 set. 2020.

SINGHA, K.; NAMGUNG, R.; KIM, W. J. Polymers in Small-Interfering RNA Delivery. v. 21, n. 3, p. 133–148, 2011.

SONG, C. et al. Triptolide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in human endothelial cells: involvement of NF- κ B pathway. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 198, 2 dez. 2019.

SONG, Y.; TANG, C.; YIN, C. Combination antitumor immunotherapy with VEGF and PIGF siRNA via systemic delivery of multi-functionalized nanoparticles to tumor-associated macrophages and breast cancer cells. **Biomaterials**, v. 185, p. 117–132, dez. 2018.

SOSNIK, A.; SEREMETA, K. Polymeric Hydrogels as Technology Platform for Drug Delivery Applications. **Gels**, v. 3, n. 3, p. 25, 3 jul. 2017.

SPICER, P. T. et al. Novel process for producing cubic liquid crystalline nanoparticles (cubosomes). **Langmuir**, v. 17, n. 19, p. 5748–5756, 2001.

STRACHAN, J. B. et al. Toxicity and cellular uptake of lipid nanoparticles of different structure and composition. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 576, p. 241–251, set. 2020.

SUREDA, A. et al. Effect of Free Fatty Acids on Inflammatory Gene Expression and Hydrogen Peroxide Production by Ex Vivo Blood Mononuclear Cells. **Nutrients**, v. 12, n. 1, p. 146, 4 jan. 2020.

TAI, W.; GAO, X. Functional peptides for siRNA delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 110–111, n. 6188, p. 157–168, fev. 2017.

TAKEMOTO, H.; NISHIYAMA, N. Functional polymer-based siRNA delivery carrier that recognizes site-specific biosignals. **Journal of Controlled Release**, v. 267, n. August, p. 90–

99, dez. 2017.

TAN, A. et al. Self-Assembled Nanostructured Lipid Systems: Is There a Link between Structure and Cytotoxicity? **Advanced Science**, v. 6, n. 3, p. 1801223, 12 fev. 2019.

TASNEEM, S. et al. Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. **Pharmacological Research**, v. 139, p. 126–140, jan. 2019.

TATIPARTI, K. et al. siRNA Delivery Strategies: A Comprehensive Review of Recent Developments. **Nanomaterials**, v. 7, n. 4, p. 77, 2017.

TEO, P. Y. et al. Co-delivery of drugs and plasmid DNA for cancer therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 98, p. 41–63, 2016.

TOFANI, L. B. et al. In Vitro TyRP-1 Knockdown Based on siRNA Carried by Liquid Crystalline Nanodispersions: an Alternative Approach for Topical Treatment of Vitiligo. **Pharmaceutical Research**, v. 35, n. 5, p. 104, 20 maio 2018.

TORRES, T.; PUIG, L. Apremilast: A Novel Oral Treatment for Psoriasis and Psoriatic Arthritis. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 19, n. 1, p. 23–32, 2018.

TRAN, N. et al. Non-lamellar lyotropic liquid crystalline nanoparticles enhance the antibacterial effects of rifampicin against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 519, p. 107–118, 2018.

TSAI, Y.-C.; TSAI, T.-F. Anti-interleukin and interleukin therapies for psoriasis: current evidence and clinical usefulness. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, v. 9, n. 11, p. 277–294, 6 nov. 2017.

TSAKOVSKA, I. et al. Quantitative structure-skin permeability relationships. **Toxicology**, v. 387, n. June, p. 27–42, jul. 2017.

TU, H. et al. Triptolide inhibits IFN- γ signaling via the Jak/STAT pathway in HaCaT keratinocytes. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 11, p. 1678–1685, 2011.

TUNG, N.-T.; VU, V.-D.; NGUYEN, P.-L. DoE-based development, physicochemical characterization, and pharmacological evaluation of a topical hydrogel containing betamethasone dipropionate microemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 181, n. June, p. 480–488, set. 2019.

UCHINO, T. et al. Glyceryl monooleyl ether-based liquid crystalline nanoparticles as a transdermal delivery system of flurbiprofen: characterization and in vitro transport. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 63, n. 5, p. 334–40, 2015.

UCHINO, T. et al. Study on the drug permeation mechanism from flurbiprofen-loaded glyceryl monooleyl ether-based lyotropic liquid crystalline nanoparticles across the skin: Synchrotron X-ray diffraction and confocal laser scanning microscopy study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 555, n. July 2018, p. 259–269, jan. 2019.

ULUDAG, H.; UBEDA, A.; ANSARI, A. At the Intersection of Biomaterials and Gene Therapy: Progress in Non-viral Delivery of Nucleic Acids. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. JUN, p. 1–21, 4 jun. 2019.

URANDUR, S. et al. Anisamide-Anchored Lyotropic Nano-Liquid Crystalline Particles with AIE Effect: A Smart Optical Beacon for Tumor Imaging and Therapy. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 10, n. 15, p. 12960–12974, 2018.

USP38/NF33. Validation of Compendial Methods Section. **The United State Pharmacopeial/National Formulary**, p. 2256, 2015.

VAN'T HAG, L. et al. Lyotropic liquid crystal engineering moving beyond binary compositional space-ordered nanostructured amphiphile self-assembly materials by design. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 10, p. 2705–2731, 2017.

- VICENTINI, F. T. M. D. C. et al. Liquid crystalline phase nanodispersions enable skin delivery of siRNA. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 83, n. 1, p. 16–24, jan. 2013a.
- VICENTINI, F. T. M. D. C. et al. Delivery Systems and Local Administration Routes for Therapeutic siRNA. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 4, p. 915–931, 24 abr. 2013b.
- VIDEIRA, M. et al. Preclinical development of siRNA therapeutics: Towards the match between fundamental science and engineered systems. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 10, n. 4, p. 689–702, maio 2014.
- VIEGAS, J. S. R. et al. Nanostructured lipid carrier co-delivering tacrolimus and TNF- α siRNA as an innovate approach to psoriasis. **Drug Delivery and Translational Research**, 14 fev. 2020.
- WAGNER, E. F. et al. Psoriasis: What we have learned from mouse models. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 12, p. 704–714, 2010.
- WALVEKAR, P.; GANNIMANI, R.; GOVENDER, T. Combination drug therapy via nanocarriers against infectious diseases. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 127, p. 121–141, jan. 2019.
- WANG, B. et al. Cellular Uptake of Covalent Poly(allylamine hydrochloride) Microcapsules and Its Influences on Cell Functions. **Macromolecular Bioscience**, v. 12, n. 11, p. 1534–1545, 2012.
- WANG, C. et al. Inhibition of Cancer Angiogenesis Using Triptolide Nanoparticles. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 11, n. 5, p. 805–815, 1 maio 2015a.
- WANG, Y. et al. Assembling Mn:ZnSe quantum dots-siRNA nanoplexes for gene silencing in tumor cells. **Biomaterials Science**, v. 3, n. 1, p. 192–202, 2015b.
- WANG, Y.; LIU, T.; LI, H. Enhancement of triptolide-loaded micelles on tumorigenicity inhibition of human ovarian cancer. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 27, n. 7, p. 545–556, 2 maio 2016.
- WENG, Y. et al. RNAi therapeutic and its innovative biotechnological evolution. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 5, p. 801–825, set. 2019.
- WITTRUP, A.; LIEBERMAN, J. Knocking down disease: a progress report on siRNA therapeutics. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, n. 9, p. 543–552, 18 set. 2015.
- WOJNIOLOWICZ, M. et al. Super-resolution Imaging of Proton Sponge-Triggered Rupture of Endosomes and Cytosolic Release of Small Interfering RNA. **ACS Nano**, v. 13, n. 1, p. 187–202, 22 jan. 2019.
- WOO, Y. R.; CHO, D. H.; PARK, H. J. Molecular mechanisms and management of a cutaneous inflammatory disorder: Psoriasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, 2017.
- WORLE, G. et al. Influence of composition and preparation parameters on the properties of aqueous monoolein dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, p. 150–157, 1 fev. 2007.
- WU, B. et al. Codelivery of doxorubicin and triptolide with reduction-sensitive lipid-polymer hybrid nanoparticles for in vitro and in vivo synergistic cancer treatment. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 1853–1862, 2017.
- XI, C. et al. Toxicity of triptolide and the molecular mechanisms involved. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 90, p. 531–541, 2017.
- XU, C. et al. pH-triggered charge-reversal and redox-sensitive drug release polymer micelles co-deliver doxorubicin and triptolide for prostate tumor therapy. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 13, p. 7229–7249, nov. 2018.

- XU, L. et al. In vivo evaluation of the safety of triptolide-loaded hydrogel-thickened microemulsion. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3792–3799, 2008a.
- XU, L. et al. Anti-tumour and immuno-modulation effects of triptolide-loaded polymeric micelles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 3, p. 741–748, nov. 2008b.
- XU, L. et al. Acute and subacute toxicity studies on triptolide and triptolide-loaded polymeric micelles following intravenous administration in rodents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 57, p. 371–379, jul. 2013.
- XU, P. et al. Evaluating the potential of cubosomal nanoparticles for oral delivery of amphotericin B in treating fungal infection. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 327, jan. 2014.
- XUE, M. et al. Comparison of toxicokinetic and tissue distribution of triptolide-loaded solid lipid nanoparticles vs free triptolide in rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 4, p. 713–717, 2012.
- YADAV, K.; SINGH, D.; SINGH, M. R. Protein biomarker for psoriasis: A systematic review on their role in the pathomechanism, diagnosis, potential targets and treatment of psoriasis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1796–1810, 2018.
- YAMAGUCHI, H. Non-Newtonian Fluid and Flow. In: **Engineering Fluid Mechanics**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008. 85p. 399–496.
- YANG, J.; LIU, H.; ZHANG, X. Design, preparation and application of nucleic acid delivery carriers. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 4, p. 804–817, 2014.
- YANG, M. et al. Development of triptolide-nanoemulsion gels for percutaneous administration: Physicochemical, transport, pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2017.
- YIN, H. et al. Non-viral vectors for gene-based therapy. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 8, p. 541–555, 15 ago. 2014.
- YOO, B. K. et al. Entrapment of curcumin into monoolein-based liquid crystalline nanoparticle dispersion for enhancement of stability and anticancer activity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 3119, jun. 2014.
- YOUNUS, M. et al. Incorporation of an Endogenous Neuromodulatory Lipid , Oleoylethanolamide , into Cubosomes : Nanostructural Characterization. 2016.
- YU, H.-P. et al. Oleic acid-based nanosystems for mitigating acute respiratory distress syndrome in mice through neutrophil suppression: how the particulate size affects therapeutic efficiency. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 18, n. 1, p. 25, 31 dez. 2020.
- YU, W. et al. Cellular uptake of poly(allylamine hydrochloride) microcapsules with different deformability and its influence on cell functions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 465, p. 149–157, 2016.
- YUAN, K. et al. Application and Mechanisms of Triptolide in the Treatment of Inflammatory Diseases—A Review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. December, p. 1–12, 6 dez. 2019.
- YUAN, Z. xiang et al. Renal-targeted delivery of triptolide by entrapment in pegylated TRX-20-modified liposomes. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 5673–5686, 2017.
- ZABARA, A.; MEZZENGA, R. Controlling molecular transport and sustained drug release in lipid-based liquid crystalline mesophases. **Journal of Controlled Release**, v. 188, p. 31–43, ago. 2014.
- ZHAI, J. et al. Non-Lamellar Lyotropic Liquid Crystalline Lipid Nanoparticles for the Next

- Generation of Nanomedicine. **ACS Nano**, v. 13, n. 6, p. 6178–6206, 25 jun. 2019.
- ZHANG, C. et al. Highly effective photothermal chemotherapy with pH-responsive polymer-coated drug-loaded melanin-like nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 1827–1840, mar. 2017a.
- ZHANG, L. et al. Fabrication of a triptolide-loaded and poly- γ -Glutamic acid-based amphiphilic nanoparticle for the treatment of rheumatoid arthritis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 2051–2064, 2018.
- ZHANG, P.; WU, M. X. A clinical review of phototherapy for psoriasis. **Lasers in Medical Science**, v. 33, n. 1, p. 173–180, 2018.
- ZHANG, Y.-Q. et al. Galactosylated chitosan triptolide nanoparticles for overcoming hepatocellular carcinoma: Enhanced therapeutic efficacy, low toxicity, and validated network regulatory mechanisms. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 15, n. 1, p. 86–97, jan. 2019.
- ZHANG, Y. et al. Dynamics and Morphology of Nanoparticle-Linked Polymers Elucidated by Nuclear Magnetic Resonance. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 22, p. 12399–12407, 21 nov. 2017b.
- ZHAO, E. et al. Surface engineering of gold nanoparticles for in vitro siRNA delivery. **Nanoscale**, v. 4, n. 16, p. 5102–5109, 2012.
- ZHAO, J.; STENZEL, M. H. Entry of nanoparticles into cells: the importance of nanoparticle properties. **Polymer Chemistry**, v. 9, n. 3, p. 259–272, 2018.
- ZHAO, X.; HUANG, Q.; JIN, Y. Gold nanorod delivery of LSD1 siRNA induces human mesenchymal stem cell differentiation. **Materials Science and Engineering C**, v. 54, p. 142–149, 2015.
- ZHEN, G. et al. Glycerol Monooleate-Based Nanocarriers for siRNA Delivery in Vitro. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 9, p. 2450–2457, 4 set. 2012.
- ZHENG, S. et al. Cytotoxicity of Triptolide and Triptolide loaded polymeric micelles in vitro. **Toxicology in Vitro**, v. 25, n. 8, p. 1557–1567, 2011.
- ZHOU, T.; ZHOU, X.; XING, D. Controlled release of doxorubicin from graphene oxide based charge-reversal nanocarrier. **Biomaterials**, v. 35, n. 13, p. 4185–4194, abr. 2014.
- ZHOU, Z. L. et al. Triptolide: Structural modifications, structure-activity relationships, bioactivities, clinical development and mechanisms. **Natural Product Reports**, v. 29, n. 4, p. 457–475, 2012.

ANEXO(S)**Anexo 1 – Ofício de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. CEP/FCFRP nº. 015/2020
kms

Ribeirão Preto, 02 de junho de 2020.

À pesquisadora
Ana Vitória Pupo Silvestrini
FCFRP/USP

Prezada Pesquisadora,

Informamos que o protocolo de pesquisa intitulado “**Desenvolvimento e caracterização de nanodispersão de fase líquido-cristalina como sistema carreador multifuncional de siRNAs e triptolida no tratamento tópico da psoríase**” (CAAE: 29151420.9.0000.5403 – Protocolo CEP/FCFRP nº 527), foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP em sua 196ª reunião ordinária, realizada em 22/05/2020, conforme Parecer Consubstanciado nº 4.062.866.

Lembramos que, de acordo com a Resolução 466/2012, item IV.5, letra d, o TCLE deverá “ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha. Em ambas as vias deverão constar o endereço e contato telefônico ou outro, dos responsáveis pela pesquisa e do CEP local”.

Informamos que deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa em formulário próprio deste Comitê, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção do mesmo, tais como eventos adversos e eventuais modificações no protocolo ou nos membros da equipe, através da interposição de emenda na Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Cleni Mara Marzocchi Machado
Coordenadora do CEP/FCFRP

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA: Desenvolvimento e caracterização de nanodispersão de fase líquido-cristalina como sistema carreador multifuncional de siRNA TNF- α e Triptolida no tratamento tópico da psoríase

LOCAL: Laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica, Bloco N (sala 19), da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto (FCFRP USP).

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Ana Vitória Pupo Silvestrini / Orientadora: Profa. Dra. Maria Vitória Lopes Badra Bentley

O senhor está sendo convidado a participar da pesquisa “Desenvolvimento e caracterização de nanodispersão de fase líquido-cristalina como sistema carreador multifuncional de siRNA TNF- α e Triptolida no tratamento tópico da psoríase” que está sendo desenvolvida pela aluna de mestrado Ana Vitória Pupo Silvestrini.

Com essa pesquisa buscamos estudar novas estratégias anti-inflamatórias para o tratamento da psoríase, uma doença inflamatória da pele. Para isso, separamos, do sangue humano, células de defesa que circulam no nosso corpo e estão envolvidas nos processos inflamatórios. O cultivo dessas células em laboratório nos permite colocá-las em contato com a formulação e avaliar se a mesma é capaz reduzir a liberação de moléculas que causam inflamação.

Desta forma, solicitamos a sua colaboração para a coleta de 20 mL (2 colheres de sopa) de sangue venoso para o cultivo de células necessárias para os estudos acima mencionados. A coleta de sangue será solicitada uma única vez. Para participar é necessário que o senhor não tenha sido acometido por qualquer doença nos últimos 30 dias e não tenham utilizado qualquer anti-inflamatório nos últimos 7 dias.

Solicitamos também a sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo absoluto.

Informamos que o procedimento solicitado será realizado por profissional capacitado, de acordo com as boas práticas de laboratório e serão utilizados materiais limpos e descartáveis.

A região para coleta se dará de acordo com a facilidade de acesso aos vasos que circulam sangue venoso, e durante a picada da agulha um pequeno desconforto poderá ser sentido, e eventualmente hematoma no local após a coleta. Para qualquer manifestação de efeito adverso relacionado à coleta, os profissionais envolvidos são habilitados para prestar os devidos socorros de forma imediata.

Todo material utilizado para os ensaios será descartado após realizar as análises necessárias, e não será utilizado para outros projetos de pesquisa.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o senhor não é obrigado a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelas pesquisadoras.

Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum prejuízo ou penalidade.

Para desistir de participar ou para qualquer dúvida, basta entrar em contato com o pesquisador ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) nos telefones que aparecem no final deste documento. O CEP é responsável por defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Em caso de danos decorrentes da pesquisa o senhor tem o direito de procurar obter indenização. Se concordar em participar desta pesquisa, o senhor e o pesquisador assinarão duas vias desse documento, cada um ficará com uma via.

As pesquisadoras estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Caso tenha dúvidas sobre aspectos éticos desta pesquisa o senhor também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pelo telefone (16) 3315-4213 ou pelo e-mail cep@fcfrp.usp.br.

Solicitamos seus dados de contato e sua assinatura, tendo recebido as informações acima, para confirmação de aceitação de participação. Também afirmamos que uma via deste documento, devidamente assinada e rubricada, será entregue ao senhor.

Ana Vitória Pupo Silvestrini
Pesquisadora responsável

Eu, _____, portador do RG _____,
residente na _____, nº _____,
bairro _____, cidade _____, telefone _____, li e
concordo em participar da pesquisa.

Assinatura do participante

Contato da pesquisadora: **Ana Vitória Pupo Silvestrini**. Telefone: (16) 33154302; Celular: (19) 981759992; E-mail: anapupo@usp.br

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP (FCFRP-USP), Fone: (16) 3315-4213 ou e-mail: cep@fcfrp.usp.br