

UNIVERSIDADE DE SOROCABA
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Franciely Cristina Corrêa das Neves Lopes

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS PARA
VEICULAÇÃO DE CURCUMINA**

Sorocaba/SP

2016

Franciely Cristina Corrêa das Neves Lopes

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS PARA
VEICULAÇÃO DE CURCUMINA**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud.

**Sorocaba/SP
2016**

Franciely Cristina Corrêa das Neves Lopes

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS PARA VEICULAÇÃO DE
CURCUMINA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Ass _____
Prof. Dr Marco Vinícius Chaud
Universidade de Sorocaba

Ass _____
Prof.^a Dr^a Patrícia Severino
Universidade Tiradentes (UNIT)

Ass _____
Prof.^a Dr^a Angela F Jozala
Universidade de Sorocaba

Dedico este trabalho, primeiramente a Deus, por ter iluminado meu caminho durante essa trajetória e sempre ter me guiado em minhas escolhas, sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, familiares e amigos, com todo o meu carinho e gratidão, pelo infinito apoio e incentivo, e por me ajudarem a tornar possível à realização do meu sonho.

Ao meu orientador e amigo Marco Vinícius Chaud pelo apoio incansável, companheirismo, amizade e paciência.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

É chegada a hora de expressar minha gratidão a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a concretização deste trabalho.

Primeiramente agradeço a Deus por me dar forças para superar as dificuldades e seguir o meu caminho e em cada superação que eu pudesse amadurecer. A Ele agradeço pela sabedoria me dada, inspiração, guia e amparo nos momentos em que achei que fosse desistir, mas Ele com sua graça e misericórdia me sustentou e esteve sempre comigo.

Ao meu pai, Maurício Rangel, meu herói, por ser meu maior exemplo de coragem, força e determinação, por ter sempre me mostrado que seria possível sim, e que apesar de eu não acreditar, me dizer incansavelmente que eu era capaz. Obrigada por ter acreditado nos meus sonhos e nunca me deixar desistir. Obrigada por me fazer sentir tão amada.

À minha mãe, Vilma Corrêa Lopes, guerreira nata. Obrigada por ter acreditado nos meus sonhos e por ter ajudado em tantas dificuldades nesta trajetória, e por desde criança ter incentivado tanto os meus estudos. Obrigada por seu amor, alicerce de minha vida.

Aos meus irmãos Juninho e Valesca, que por mais que eu achasse que existisse uma distância entre nós, vocês me mostraram que no momento em que eu mais precisei estiveram ao meu lado, lutando comigo, e não me deixando fracassar e nem desistir. Aos demais irmãos, um pouco mais distante, porém, não menos especiais, agradeço de coração por todo apoio e carinho.

A toda minha família, em especial as minhas tias Shirlei, Sandra e Joselaine, a minha prima Michelle, as minhas avós Izaura e Eunice. Agradeço pelo amor, carinho, apoio, força e pelas palavras sábias e de fé na hora das dúvidas e indecisões.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud, por aceitar-me como orientada e ter acreditado e nunca ter desistido de mim, agradeço pela orientação segura, por sua exigência em querer de mim o melhor, pelos ensinamentos transmitidos desde a minha formação acadêmica, pela amizade, competência, paciência e disponibilidade. Minha gratidão pela confiança e total admiração por sua sabedoria.

A minha querida amiga-irmã Thamma Karina Martins Oliveira, por toda ajuda, carinho e amor empregado. Obrigada por existir em minha vida e nunca ter me deixado desistir, e por sempre me dizer a seguinte frase: “Fran você é brilhante!”, e mesmo não sendo merecedora disso, ouvir isso, de certa forma, me dava forças a prosseguir. Obrigada pelo carinho, pelos risos e por ter ajudado em tantos obstáculos. Obrigada por ter sido ouvinte das minhas angústias, dúvidas, inquietações e por valorizar e se entusiasmar tanto com meu trabalho. Obrigada por sua eterna amizade.

À minha querida amiga-irmã Thaís Francine Ribeiro Alves, pelo carinho e compreensão, pelas incansáveis horas de conversas, por toda ajuda neste trabalho e por ser esta pessoa tão especial e abençoada. Obrigada por ser minha melhor amiga desde a graduação, por estar comigo em todos os momentos, e sem dúvida alguma, a nossa amizade será para sempre. Obrigada por ter compartilhado de tantos momentos da minha vida nestes anos todos e fazer parte da minha história. Obrigada por sua amizade.

À minha amiga de uma vida toda, Meire Carvalho, que me acompanhou desde o ensino fundamental e sempre está comigo me dando força para continuar e nunca desistir dos meus sonhos e objetivos e que apesar da distância sempre esteve ao meu lado me apoiando, e torcendo por mim. Além de ser sempre preocupada comigo, com certeza sem essa cumplicidade e carinho tudo seria mais difícil.

Agradeço a minha amiga mais que especial Katiusca Silva Pontes por toda ajuda prestada e por todo apoio que tem me dado, pelos conselhos e pelo exemplo de pessoa a ser seguido, tem sido como verdadeira irmã para mim, tem estado ao meu lado em todos os momentos desde os mais alegres aos mais difíceis demonstrando sua amizade e carinho. Para sempre amigas arianas forever!

À minha amiga que se tornou uma irmã, Jaqueline Ataliba, pelo carinho, companheirismo e prontidão, tão importantes nesta caminhada e por orar por mim nos momentos de tanta angústia e dor, obrigada por tentar abrir meus olhos e me mostrar o verdadeiro sentido da nossa vida.

À minha querida amiga Alessandra Rios, que de uma simples colega de carona, se tornou uma amiga especial que levarei por toda vida, obrigada por toda força e apoio e por sempre me mostrar o lado bom da vida. Obrigada por me ensinar tantas coisas, pelas conversas, momentos de descontração, por ouvir meus

desabafos e compartilhar comigo tantas dúvidas da vida, obrigada por me permitir ser sua amiga.

Às minhas queridas amigas e companheiras de mestrado, Elis Granato, Marcia Rabelo, Cássia Glasser, pessoas com quem tive o privilégio de aprender e compartilhar tantos momentos, obrigada por todo apoio e força nesta jornada.

Aos meus amigos de trabalho, Fernanda Guimarães, Paula Donato, Rafael Silveira, Anderson Moraes, Juliana Ventura, Juliana Takahama, Felipe Correa, Jussara Reis, Giovana Perri Rocha, Alexandre Hatori, obrigada por fazerem mais simples os momentos complicados e por mostrarem o lado belo da vida, quando eu não enxergava sequer saída. Obrigada por terem me ensinado que as coisas têm seu tempo e que dão certo: é só perseverar. Obrigada por me presentear com a amizade de vocês.

Ao Rodrigo Placido por ter me auxiliado, por ter ouvido meus desabafos e por todo apoio.

À Celia Martins e toda sua família por terem me recebido de braços abertos em sua família nos momentos em que precisei, por me apoiarem sempre e por torcerem por mim. Algumas pessoas entram na nossa vida por acaso, mas não é por acaso que elas permanecem. Amo muito todos vocês.

Aos demais mestrandos, pessoas que conheci mais profundamente nesta convivência alucinante promovida pelo mestrado. Conversar com quem tinha as mesmas angústias parecia mais fácil e me fazia parecer menos maçante.

Às minhas amigas e líderes, Ana Carolina Pereira e Lidiana Cunha, por toda compreensão no meu trabalho, por todo apoio e ajuda, por permitirem que eu conciliasse meu mestrado e trabalho e acima de tudo por apoiarem e serem exemplos de dedicação e sucesso no que fazem.

Aos meus amigos e todas as pessoas que de algum modo, me incentivaram e me acompanharam nessa jornada.

Ao laboratório LME/LNNano pelo uso e suporte técnico da instalação de microscopia eletrônica.

À Uniso por ter me acolhido durante a graduação e por possibilitar a realização do mestrado.

À Capes pelo incentivo financeiro.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, meu MUITO OBRIGADA!

“Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas”
(A. S. Exupéry)

“Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha
fortaleza, e nele confiarei”.
(Salmos 91:2)

RESUMO

A proposta deste estudo foi desenvolver e avaliar nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) para a veiculação de curcumina (CUR). A CUR é um composto fitoquímico reconhecido pela baixa toxicidade intrínseca e ampla variedade de efeitos terapêuticos. Embora apresente um grande potencial terapêutico, a biodisponibilidade da CUR é baixa. Sistemas carreadores nanoestruturados têm sido utilizados para superar barreiras biológicas que limitam a biodisponibilidade de fármacos. Para veiculação na forma de NLS, a baixa solubilidade da CUR em água foi resolvida através da preparação de dispersões sólidas (DS), com o carreador hidrossolúvel polivinilpirrolidona K30 (PVP K30), utilizando tecnologia de co-precipitação e fusão. As DS foram caracterizadas por equilíbrio de solubilidade (ES), teor, calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raio X (DR-X). Foram feitas 9 (nove) formulações de NLS, denominadas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3 preparadas utilizando softisan® 100, lecitina de soja, span 80, estes para a fase oleosa, e glicerol, tween 80 e água na fase aquosa. O método empregado para a produção das NLS foi o de microemulsificação. As DS e CUR livre foram dispersas nas NLS com massa equivalente a 200 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ de CUR. A avaliação das NLS contendo DS-CUR foi comparada com as formulações contendo CUR livre. As propriedades físico-químicas foram avaliadas e comparadas para potencial hidrogeniônico (pH), eficiência de incorporação, volume hidrodinâmico, potencial zeta, índice de polidispersão, calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e perfil de liberação da CUR. Das nove formulações, as que apresentaram os melhores resultados foram a B2 (softisan® 100 1%, lecitina de soja 0,5%, span 80 0,2%, glicerol 12,6%, tween 80 0,5%, 200 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ de CUR.) e C2 (softisan® 100 1%, lecitina de soja 0,5%, span 80 0,3%, glicerol 12,6%, tween 80 0,5% e 200 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ de CUR). As análises dos resultados mostraram que as NLS (B2 e C2) tem potencial para veiculação de CUR.

Palavras-chave: Curcumina. Nanopartículas lipídicas sólidas. Dispersão sólida.

ABSTRACT

The purpose of this study was to develop and evaluate solid lipid nanoparticles (SLNs) for the delivery of curcumin (CUR). The CUR compound is a phytochemical recognized by its low intrinsic toxicity and wide variety of therapeutic effects. Although it has a great therapeutic potential, CUR's bioavailability is low. Nano-structured carrier systems have been used to overcome biological barriers that limit the bioavailability of drugs. To solve CUR's low water solubility issue and deliver the SLN form, a preparation with solid dispersions (SDs) containing the carrier polyvinylpyrrolidone was performed, using co-precipitation and fusion techniques. The SDs were characterized by Solubility Equilibrium (ES), percentage, Differential Scanning Calorimetry (DSC), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-Ray Diffraction (XRD). Nine SLN formulations were created, designated as A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 and C3, prepared using 100 softisan®, soy lecithin and span 80 for the oil phase, and glycerol, Tween 80 and water for the aqueous phase. Microemulsification was the technique chosen for SLNs production. The SDs and free CUR molecules were dispersed on SLNs with a CUR equivalent mass of 200 µg. ml⁻¹. The evaluation of SLNs containing DS-CUR was compared with formulations containing free CUR molecules. The physicochemical properties were evaluated and compared to hydrogen potential (pH), incorporation efficiency, hydrodynamic volume, zeta potential, molecular weight distribution ratio, DSC, FTIR, Transmission Electron Microscopy (TEM) and CUR's release pattern. Two out of nine formulations revealed best results: B2 (100 softisan® 1% soya lecithin 0.5% Span 80 0.2%, 12.6% glycerol, 0.5% Tween 80, 200 µg . ml⁻¹ CUR) and C2 (100 softisan® 1% soya lecithin 0.5% span 80 0.3% glycerol 12.6%, 0.5% tween 80 and 200 µg. ml⁻¹ CUR). Analysis's results showed that SLNs (B2 and C2) have potential for CUR's delivery.

Keywords: Curcumin. Solid lipid nanoparticles. Solid dispersion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural da curcumina (CUR).....	24
Figura 2 – Estrutura química da polivinilpirrolidona K30	29
Figura 3 – Formas de incorporação do fármaco às NLS.....	37
Figura 4 – Desenho experimental das etapas de desenvolvimento e caracterização das dispersões sólidas	52
Figura 5 – Curva Analítica para a CUR em solução etanólica 95% (v/v)	57
Figura 6 – Teor de Curcumina nas amostras de dispersão sólida obtida por co-precipitação (DSc 1:1; 1:2; e 2:1 m:m) DS obtida por fusão (DSf 1:1; 1:2; e 2:1 m:m) e MF (1:1; 1:2; e 2:1 m:m).....	59
Figura 7 – Equilíbrio de solubilidade da CUR em água ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) para as amostras de DS obtida por co-precipitação (DSc 1:1; 1:2; e 2:1 m:m), DS obtida por fusão (DSf 1:1; 1:2; e 2:1 m:m), MF (1:1; 1:2; e 2:1 m:m) e CUR não processada.(“insert”). As letras iguais indicam que não há diferença significativa entre as médias dos valores ($p>0,05$) ($n=3$). Os demais resultados são estatisticamente diferentes.....	60
Figura 8 – Fotomicrografias de amostra de CUR livre (A) e DSf CUR: PVP 1:2 (B) obtidas por microscopia eletrônica de varredura no aumento de 2000x. As setas brancas indicam a presença da PVP K30 modificada pela fusão, e a seta vermelha CUR no estado amorfo	61
Figura 9 – Difratoograma das amostras de CUR não processada e da DSf CUR:PVP K30 1:2.....	62
Figura 10 – Curvas termoanalíticas das amostras de CUR não processada, PVP K30 e DSf CUR:PVP K30 2:1	63
Figura 11 – Espectros de FTIR das amostras de CUR, PVP K30, DSf CUR:PVP K30 1:2 e MF CUR:PVP K30 1:2.....	65
Figura 12 – Delineamento experimental para o desenvolvimento e avaliação de Nanopartículas Lipídicas Sólidas de Curcumina e de Dispersão Sólida obtida na proporção de 1:2 (m/m).	74
Figura 13 – Perfil do pH das formulações de A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3 em função do tempo sob temperatura de armazenamento a 9°C.....	82
Figura 14 – Perfil do pH das formulações de A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 E C3 em função do tempo sob temperatura de armazenamento a 25°C	82

Figura 15 – Variação do volume hidrodinâmico das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 9°C	84
Figura 16 – Variação do volume hidrodinâmico das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 25°C.	84
Figura 17 – Índice de polidispersidade das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 9°C	85
Figura 18 – Índice de polidispersidade das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 25°C	85
Figura 19 – Potencial Zeta (mV) das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 9°C	87
Figura 20 – Potencial Zeta (mV) das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 25°C	87
Figura 21 – Perfil do pH das formulações C2-placebo, C2-CUR, C2-DS-CUR:PVPK30 1:2, B2-placebo, B2-CUR, B2-DS-CUR:PVP K30 1:2...	89
Figura 22 – Tamanho hidrodinâmico das NLS de C2-CUR, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias)	90
Figura 23 – Índice de Polidispersão das NLS de C2-CUR, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias)	91
Figura 24 – Potencial zeta das NLS de C2-CUR, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias).	92
Figura 25 – Eficiência de incorporação (%) das NLS de B2- CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, em função do tempo (0, 7 e 15).....	93
Figura 26 – Espectros de FTIR das amostras de CUR, PVP K30, DSf CUR:PVP K30 1:2 e MF CUR:PVP K30 1:2	94

Figura 27 – Curvas termoanalíticas das amostras B2-DSf CUR:PVP K30 1:2, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR e C2-CUR	96
Figura 28 – Micrografia da NLS incorporada com CUR livre (B2-CUR) obtida por MET.....	97
Figura 29 – Micrografias obtidas por MET das NLS incorporada com DS obtida por fusão (B2-DSf CUR:PVP K30 1:2)	98
Figura 30 – Micrografias das NLS incorporada com DS obtida por fusão (C2-DSf CUR:PVP K30 1:2).....	98
Figura 31 – Perfil de liberação e dissolução da CUR nas NLS B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados da absorbância da CUR em solução etanólica. Os resultados expressam a média (n=3), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) para cada concentração de CUR.....	57
Tabela 2 – Equação da reta, coeficiente de correlação linear da curva analítica da curcumina, limite de detecção e limite de quantificação.....	58
Tabela 3 – Composição das formulações de NLS A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3 e seus respectivos valores de EHL.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CUR	Curcumina
DGT	Análise termogravimétrica derivada
DTA	Análise térmica diferencial
DR-X	Difração de raio X
DS	Dispersão sólida
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DSc	Dispersão Sólida obtida por co-precipitação
DSf	Dispersão sólida obtida por fusão
ES	Equilíbrio de solubilidade
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IP	Índice de polidispersão
IL	Interleucina
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MF	Misturas físicas
NF-KB	Fator Nuclear – kB
NLS	Nanopartículas lipídicas sólidas
PEG	Polietilenoglicóis
pH	Potencial hidrogeniônico
PVP	Polivinilpirrolidona
SLN	Nanopartículas lipídicas sólidas
TGA	Análise termogravimétrica
UV-VIS	Espectrofotometria ultravioleta visível

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo geral	21
2.2 Objetivos específicos.....	21

CAPÍTULO I

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
3.1 Curcumina.....	23
3.1.1 Solubilidade aquosa de fármacos	25
3.2 Dispersão sólida.....	26
3.2.1 Carreadores para dispersão sólida	27
3.2.2 Polivinilpirrolidona	28
3.2.3 Métodos para obtenção de dispersão sólida	29
3.3 Técnicas para caracterização de dispersão sólida	32
3.3.1 Análises térmicas	32
3.3.2 Difração de raios-X.....	32
3.3.3. Microscopia eletrônica de varredura	32
3.3.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	33
3.4 Nanopartículas lipídicas sólidas.....	33
3.5 Técnicas para obtenção das nanopartículas lipídicas sólidas	35
3.5.1 Microemulsão	35
3.5.2 Emulsificação e evaporação do solvente	35
3.5.3 Difusão de solvente	36
3.5.4 Homogeneização à alta pressão	36
3.5.5 Tipos de nanopartículas lipídicas sólidas	37
3.6 Referências	39

CAPÍTULO II

4 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÃO SÓLIDA DE CURCUMINA COM POLIVINILPIRROLIDONA K30	49
4.1 Resumo	49
4.2 Abstract.....	50

4.3 Introdução.....	51
4.4 Objetivo	51
4.5 Desenho experimental	52
4.6 Material e Métodos	52
4.6.1 Preparação das dispersões sólidas de curcumina com polivinilpirrolidona K30	52
4.6.2 Preparação das MF de CUR com polivinilpirrolidona K30.....	53
4.7 Espectrofotometria de varredura para determinação do pico máximo de absorbância e construção da curva analítica de curcumina	53
4.8 Determinação do teor da curcumina por espectrofotometria ultravioleta ...	54
4.9 Caracterização físico-química das dispersões sólidas.....	54
4.9.1 Equilíbrio de solubilidade em água.....	54
4.9.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	55
4.9.3 Difração de raios-X.....	55
4.9.4 Calorimetria exploratória diferencial	55
4.9.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	56
4.10 Resultados e discussão.....	56
4.10.1 Curva analítica de curcumina	56
4.10.2 Determinação do teor da curcumina por espectrofotometria ultravioleta visível (UV-VIS)	58
4.11 Caracterização das dispersões sólidas.....	59
4.11.1 Equilíbrio da solubilidade.....	59
4.11.2 Microscopia eletrônica de varredura	60
4.11.3 Difração de raios-X.....	61
4.11.4 Calorimetria exploratória diferencial	63
4.11.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).	64
4.12 Conclusão	66
4.12 Referências	67

CAPÍTULO III

5 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS DE CURCUMINA	70
5.1 Resumo	70
5.2 Abstract.....	71

5.3 Introdução.....	72
5.4 Objetivos	72
5.5 Desenho experimental	73
5.6 Material e método	74
5.6.1 Curva analítica da Curcumina	75
5.6.2 Preparação das nanopartículas lipídicas sólidas.....	75
5.7 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das NLS	76
5.7.1 Avaliação de pH	76
5.7.2 Volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta	77
5.8 Preparação das nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcumina livre e dispersão sólida obtida por fusão CUR:PVP K30 1:2	77
5.9 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcumina livre e DSf CUR:PVP K30 1:2.....	77
5.9.1 Avaliação de pH	78
5.9.2 Volume hidrodinâmico e índice de polidispersão e potencial zeta	78
5.9.3 Eficiência de incorporação	78
5.9.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Forrier.....	79
5.9.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	79
5.9.6 Microscopia eletrônica de transmissão.....	79
5.9.7 Perfil de liberação e dissolução de CUR	80
5.10 Resultados e discussão.....	80
5.10.1 Curva analítica de curcumina	81
5.11 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das NLS	81
5.11.1 Medida do pH	81
5.11.1 Volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta	83
5.12 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcumina livre e DSf CUR:PVP K30 1:2.....	88
5.12.1 Medida do pH	88
5.12.2 Volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta	89
5.12.3 Eficiência de incorporação	93
5.12.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Forrier (FTIR)	94
5.12.5 Calorimetria exploratória diferencial	95
5.12.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão	96
5.12.7 Perfil de liberação e dissolução de CUR	99

5.13 Conclusão	100
5.14 Referências	101
 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	 105
 REFERÊNCIAS.....	 106

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho foi organizado na forma de capítulos, contendo revisão bibliográfica (Capítulo I), preparação e caracterização de dispersão sólida (DS) de curcumina (CUR) com polivinilpirrolidona K30 (PVP K30) (Capítulo II) e preparação e caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) com CUR (Capítulo III).

O Capítulo I aborda a revisão bibliográfica sobre o tema deste trabalho. A CUR é um composto fitoquímico de cor amarelo-alaranjada, extraído da raiz da cúrcuma e exerce uma grande variedade de efeitos biológicos e farmacológicos, incluindo antioxidante, anti-inflamatórios, antimicrobiana e anticancerígena. Contudo, sua aplicação terapêutica é limitada devido a sua baixa solubilidade aquosa, alta taxa de decomposição em potencial hidrogeniônico (pH) neutro ou básico, metabolismo extensivo e rápida eliminação, que conduzem à reduzida biodisponibilidade deste fármaco.

Um dos principais desafios no desenvolvimento de sistemas de dosagem para veiculação da CUR é superar a baixa solubilidade deste composto em água e retardar a degradação química. Entre as diferentes estratégias descritas na literatura as DS são aquelas que apresentam melhores resultados. O termo (DS) refere à dispersão de um ou mais ativo em um carreador hidrofílico, fisiologicamente inerte. Sistemas carreadores nanoestruturados têm sido descritos como estratégia para superar barreiras biológicas que limitam a biodisponibilidade de fármacos. Entre os sistemas de liberação de fármacos, as nanopartículas têm sido consideradas promissores carreadores para agentes terapêuticos, devido à capacidade de proteger as moléculas ativas contra degradação em meio fisiológico, liberar controladamente a substância ativa no sítio de ação e conduzir à redução dos efeitos colaterais indesejáveis decorrentes da ampla destruição do fármaco no organismo. O uso de nanopartículas ainda pode ser associado a outras importantes vantagens como a possibilidade de veicular fármacos hidrofóbicos pela via intravenosa, a facilidade de preparação e sua estabilidade nos fluidos biológicos e durante o armazenamento.

O Capítulo II aborda a preparação e avaliação de DS contendo CUR preparadas pelas técnicas de co-precipitação e fusão utilizando como carreador hidrossolúvel a PVP K30. As DS foram caracterizadas por equilíbrio de solubilidade

(ES), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raio X (DR-X).

O Capítulo III aborda a preparação e caracterização de NLS de CUR para a seleção da formulação otimizada para a incorporação das DS e da CUR não processada. As propriedades físicas e físico-químicas das NLS contendo curcumina foram avaliadas quanto ao pH, eficiência de incorporação, volume hidrodinâmico, potencial zeta, índice de polidispersão, DSC, FTIR, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e perfil de liberação da curcumina.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar estratégias de formulação para forma farmacêutica de nanopartículas lipídicas sólidas para veiculação de curcumina.

2.2 Objetivos específicos

- a) preparar dispersões sólidas com PVP K30 e Curcumina (DS-CUR) pelo método de co-precipitação e pelo método de fusão usando radiação micro-ondas;
- b) avaliar o equilíbrio de solubilidade da CUR nas DS;
- c) avaliar alterações de cristalinidade da CUR;
- d) comparar a solubilidade em água da CUR pura e CUR em MF e DS;
- e) desenvolver nanopartículas lipídicas sólidas contendo CUR livre e DS-CUR;
- f) avaliar a eficiência de incorporação, medidas de tamanho e potencial zeta das nanopartículas lipídicas sólidas;
- g) avaliar tamanho e morfologia das partículas por MET;
- h) avaliar interação da CUR com as nanopartículas (FTIR, DSC);
- i) investigar a estabilidade das Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) armazenadas durante 60 dias a 9 °C e em temperatura ambiente 25°C;
- j) avaliar o perfil de liberação da curcumina.

CAPÍTULO I

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Curcumina

Cúrcuma longa é uma planta monocotiledônea, herbácea, perene, pertencente ao gênero *cúrcuma* e à família *Zingiberaceae* (MAY et al., 2005). A planta atinge em média de 120 a 150 centímetros de altura. Suas folhas são longas, oblongo-lanceoladas e oblíquo-nervadas, sendo os pecíolos de mesmo tamanho dos limbos. A planta é formada por um rizoma principal, que se desenvolve agrupado no solo, abaixo do colo da planta, sendo usualmente denominados de ‘cabeça’ ou ‘pião’, o qual é periforme, arredondado ou ovóide, com a presença de ramificações secundárias denominadas de ‘dedos’, sendo estas compridas e também tuberizadas, formando uma estrutura também denominada como ‘mão’ (HERTWIG, 1986; MAIA, 1991).

A planta foi introduzida no Brasil na década de 80, sendo originária no sudeste da Ásia (ALMEIDA, 2006). Classificada como especiaria, é conhecida popularmente como açafrão, açafrão-da-terra, açafrão-da-Índia, batatinha amarela, gengibre dourado e mangarataia (MAIA et al., 1995).

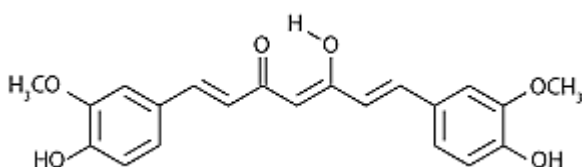
A CUR foi isolada pela primeira vez em 1815 a partir do rizoma da planta *Curcuma longa* L. e isolado na forma de cristais em 1870. O extrato obtido da planta é insolúvel em água e éter, sugerindo que uma polaridade é intermediária. A característica dos rizomas é a coloração amarelo-alaranjado, proveniente da sua solubilidade em etanol (ε 25) e acetona (ε 20) (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008; GOVINDARAJAN, 1980).

Os rizomas do açafrão ou *cúrcuma* contém diversos curcuminóides, cujo composto majoritário é a CUR, a qual é responsável pelos seus efeitos medicinais e biológicos (ARAÚJO et al., 2001; MAHESHWARI et al., 2006). A CUR tem demonstrado grande potencial terapêutico, sendo nove os principais compostos farmacologicamente ativos: *curcumina*, *dimetoxi curcumina*, *bis-dimetoxi curcumina*, isômeros geométricos cis-trans da *curcumina*, *arturmerona*, *turmerona*, *curcumona*, *turmeronol A* e *turmeronol B*. Estes compostos são responsáveis por uma gama de atividades biológicas (AGGARWAL; KUMAR; BHARTI, 2003; AK; GÜLÇİN, 2008; ANITHA et al., 2011; GILDA et al., 2010; PARI; TEWAS; ECKEL, 2008).

A CUR é uma molécula com um gene responsável por várias características, capaz de interagir com numerosas moléculas envolvidas na cascata inflamatória (JURENKA, 2009). Seus mecanismos de ação parecem envolver a regulação de vários alvos moleculares, incluindo fatores de transcrição (como o Fator Nuclear - κ B – NF- κ B), fatores de crescimento (como o fator de crescimento endotelial vascular), citocinas inflamatórias (como o TNF- α , IL-1 e IL-6), proteínas quinases e outras enzimas (tais como ciclooxigenase 2 e lipoxigenase 5). A CUR reduz a inflamação por diminuir a formação de mediadores inflamatórios como a IL-1- β , nos condrócitos articulares (HENROTIN et al., 2010). A curcumina apresenta atividade antagonista contra as citocinas pró-inflamatórias (BUHRMANN et al., 2010).

A CUR consiste estruturalmente em uma molécula de dibenzoil-metano (1,7bis (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5diona), formada por dois anéis metoxifenol ligados uma estrutura β -dicetona (Figura 1), este pigmento polifenólico, lipossolúvel possui amplo espectro de atividades biológicas e farmacológicas (BHAWANA et al., 2011; GOVINDARAJAN, 1980). A ação antioxidante da CUR é atribuída à presença dos grupos fenólicos e a β -dicetona presentes em sua estrutura (ARAÚJO et al., 2001; XIAO et al., 2010).

Figura 1 – Fórmula estrutural da curcumina (CUR)



Fonte: EPSTEIN, J.; SANDERSON, I. R.; MACDONALD, T. T. Curcumin as a the therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 11, p. 1545-1557, 2010.

A CUR apresenta um grande potencial terapêutico, porém suas aplicações clínicas e propriedades funcionais são comprometidas pela baixa concentração plasmática detectada após administração oral. Após a administração oral, a CUR é absorvida pelo trato gastrointestinal, sendo biotransformada no intestino e no fígado. Nos hepatócitos de ratos e humanos é metabolizada à curcumina-glicuronídeo, sulfato de curcumina, tetrahidrocurcumina (OKADA et al., 2001; SOMPARN et al., 2007). Uma vez metabolizada, seus metabólitos são excretados através da bile e da urina (MESA et al., 2006).

A baixa biodisponibilidade da CUR torna-se um problema a ser superado, pois impede que o seu alto potencial terapêutico seja devidamente aplicado. Muitos estudos têm sido desenvolvidos para avaliar estratégias para aumentar a atividade terapêutica da CUR. Estes estudos abrangem o desenvolvimento de novas formulações como nanopartículas, micelas, complexos fosfolipídicos, dispersões sólidas (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009; CHEN et al., 2009; LI; BRAITEH; KURZROCK, 2005; RAMALINGAM; KO, 2015).

As nanopartículas são uma opção interessante para aumentar a biodisponibilidade da CUR, uma vez que podem proporcionar maior penetração em membranas plasmáticas devido ao seu pequeno tamanho, além de seu potencial terapêutico se tornando excelente transportadoras de medicamentos (KURIEN et al., 2007).

3.1.1 Solubilidade aquosa de fármacos

A baixa solubilidade de um fármaco em água é um fator limitante para obter uma reposta terapêutica adequada, uma vez que o fármaco deve estar em solução para que possa ser absorvido e alcançar seu efeito terapêutico. A biodisponibilidade de fármacos administrados por via oral está condicionada à solubilidade e à taxa de dissolução em água ou em meio aquoso. Fármacos pouco solúveis em água apresentam baixa biodisponibilidade (PATEL et al., 2008; RAMA et al., 2006). A solubilidade refere-se à concentração do fármaco em solução e é regida por um estado de equilíbrio, que quando alcançado permanece constante (ABDOU, 1989; STORPIRTIS, 1999).

Determinados fármacos podem apresentar problemas relacionados à biodisponibilidade, pois a absorção ocorre durante um período limitado após a ingestão, e quando o fármaco é pouco absorvido, sua biodisponibilidade será menor. Portanto a quantidade do fármaco disponível no organismo para desempenhar efeito será menor, e poderá ocorrer um efeito sub-terapêutico, o que não é desejado (AMIDON et al., 1995; BARRETO; BICA; FARINHA, 2002; DRESSMAN et al., 1998; PANCHAGNULA; THOMAS, 2000; SHARGEL; YU, 2002).

Diversas estratégias para melhorar a biodisponibilidade oral de fármacos com solubilidade aquosa reduzida foram e ainda permanecem sendo estudadas, pois isto é parâmetro crítico de eficácia. Dentre algumas estratégias, a redução do tamanho

da partícula, aumento da área da superfície de contato, a alteração do estado físico do fármaco de cristalino para amorfo ou parcialmente amorfo (JUNYAPRASERT; MORAKUL, 2015).

Com base no problema da baixa absorção de fármacos, algumas técnicas foram desenvolvidas para melhoria da solubilidade de fármacos, indiferente da sua estrutura molecular, química ou dimensionamento molecular (LOFTSSON; HREINSDÓTTIR; MÁSSON, 2005). O emprego de dispersões sólidas tornou uma área atrativa de pesquisa no setor farmacêutico, devido a eficiente maneira de melhorar a solubilidade de um ativo, pois a técnica propicia uma significativa redução no tamanho da partícula do fármaco, com o aumento da superfície de contato e da uniformidade da mesma, reduzindo a taxa de dissolução e aumentando a velocidade de absorção (BIKIARIS et al., 2005).

3.2 Dispersão sólida

Dispersão sólida abrange o conceito de que um ou mais ativo estará dispersos em um carreador ou matriz fisiologicamente inerte no estado sólido (SERAJUDIN, 1999). Mais especificamente, o termo DS consiste em um tipo de tecnologia farmacêutica caracterizada pela mistura de um ou mais componentes farmacologicamente ativos em um carreador inerte, fisiologicamente compatível, com a finalidade de superar a limitação de solubilidade em água. Assim e aumentando-se a dissolução, aumenta-se a biodisponibilidade do fármaco (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Esta estratégia está relacionada tanto com o processo de co-precipitação, como fusão e obtenção de nanopartículas, microcápsulas e outras dispersões de ativos em polímeros ou lipídeos (HU et al., 2004; MAHESHWARI; JAGWANI, 2011; SRINARONG et al., 2011). As DS apresentam diversas vantagens e aplicações, e estão principalmente relacionadas com a melhoria na solubilidade de fármacos pouco solúveis em água.

O primeiro estudo sobre o assunto e as suas vantagens ocorreu em 1961 por Sekiguchi e Obi (1961), a partir de então, diversos trabalhos relacionados tem sido publicados. Entretanto, e apesar de todos os benefícios destes sistemas, muitos problemas envolvidos com a tecnologia de dispersões sólidas ainda precisam ser

solucionados como na utilização de solventes orgânicos e a formação de complexos (BIKIARIS, 2011).

O termo “co-precipitado” ou “co-evaporado” é bastante usual e restritivo apenas para o método usando solvente volátil. Porém, o significado pode ser aplicado para incluir certas nanopartículas, microcápsulas, microesferas e dispersões preparadas por fusão, fusão-solvente, extrusão, irradiação por micro-ondas, condições supercríticas e uso de nanopartículas inorgânicas (CHAUD et al., 2010; KAROLEWICZ et al., 2012).

De acordo com as características físico-químicas do fármaco após associação com o carreador, as DS podem ser classificadas em seis grupos: mistura eutética, solução sólida, solução vítrea, precipitado amorfo, complexo e a combinação destes grupos. No entanto, os conceitos que tentam explicar o comportamento destas dispersões não são muito claros, exceto para a diferença entre mistura eutética e solução sólida (CHIOU; RIEGELMAN, 1971).

A estratégia para utilização de dispersão sólida é utilizada para resolver problemas de fármacos cuja biodisponibilidade é limitada pela taxa de dissolução. Um carreador hidrofílico é usado para aumentar a área de superfície, aumentar a molhabilidade da partícula do fármaco ou alterar o estado cristalino para amorfo (EMARA; BADR; ELBARY, 2002; GOHEL; PATEL, 2003; ROUCHOTAS; CASSIDY; ROWLEY, 2000; VERMA et al., 2003).

As DS apresentam outras vantagens além do aumento da solubilidade, trata-se de um sistema onde ocorre a modulação das propriedades que limitam a biodisponibilidade, melhoram a estabilidade de fármacos e promovem a liberação do ativo de forma sustentada (MENG et al., 2015; SETHIA; SQUILLANTE, 2003; WEUTS et al., 2005).

3.2.1 Carreadores para dispersão sólida

As DS são obtidas pela mistura de um fármaco, ao qual se quer melhorar suas características, e um carreador inerte. Os carreadores empregados nestas dispersões são polímeros (sintéticos e/ou naturais) e apresentam propriedades de acordo com suas características químicas (LOFTSSON; MASSON; BREWSTER, 2004).

Como exemplos desses polímeros, podemos citar os derivados celulósicos naturais, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), etilcelulose e hidroxipropilcelulose, e os sintéticos, que incluem a PVP e polietilenoglicol (PEG) (CIRRI et al., 2004).

A escolha correta do carreador a ser usado na dispersão sólida pode determinar o tempo em que o fármaco possa vir a se recrystalizar. Isto está relacionado com o grau de miscibilidade do fármaco no polímero em determinada umidade (VASANTHAVADA et al., 2005). Uma tentativa para alcançar os resultados da dispersão sólida é ajustar as propriedades físico-químicas dos polímeros ao sistema requerido, através da combinação de um ou mais polímeros e entre polímeros e tensoativos (JANSSENS et al., 2008).

Com a incorporação de polímeros em dispersões sólidas ou formulações com propriedades hidrofóbicas, é possível melhorar a solubilidade e consequentemente a biodisponibilidade e variabilidade na administração das mesmas (WARREN et al., 2010).

A escolha do carreador a ser utilizado deverá ser direcionada para excipientes que possam aumentar efetivamente a taxa de dissolução do fármaco, além de possuir características fundamentais, como atóxico, farmacologicamente inativo, física e quimicamente estável ou que possa modular a liberação do fármaco. Devido a estas exigências, os carreadores poliméricos como PVP, álcool polivinílico, PEG, óleo de castor hidrogenado, derivados da celulose, poloxamer, crospovidona, têm sido preferencialmente escolhidos (BIKIARIS, 2011).

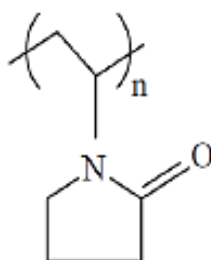
A formulação adequada de fármaco-carreador(es) necessita de um estudo prévio sobre a solubilidade do fármaco no carreador, além dos mecanismos que evitem o crescimento de cristais, de forma a controlar a estabilidade do produto. Conhecimentos sobre a solubilidade e análise térmica fornecem informações úteis para prever a miscibilidade do fármaco com o excipiente dissolvido ou fundido (FORSTER et al., 2001; LANGER et al., 2003).

3.2.2 Polivinilpirrolidona

A PVP, também conhecida porpovidona (Figura 2), é formada por grupos lineares de N-vinil-2-pirrolidona, apresenta um anel lactâmico como parte da unidade monomérica. Este anel é altamente polar devido à presença da ressonância, a qual

ocorre pela geometria planar do anel. Devido a essa característica é possível que ocorra a ligação de fármacos poucos solúveis através das ligações de hidrogênio, o que faz com que este carreador seja amplamente usado no processo de dispersões sólidas (KARAVAS et al., 2007). Estas interações químicas são necessárias para estabilizar a molécula e formar complexos estáveis com polímeros e tensoativos (AMORIM et al., 2006).

Figura 2 – Estrutura química da polivinilpirrolidona K30



Fonte: DORNELAS, C. B. et al. Preparação e avaliação reacional de nanocompósitos de PVP K-30 – montmorilonita (natural e organicamente modificada) por difração de raios X. **Polímeros**, São Carlos, v. 18, n. 2, p. 187-192, 2008.

A PVP apresenta em geral, uma elevada temperatura de transição vítrea, para a PVP K-30, é de 163°C, sendo considerado um pó higroscópico, inodoro e de coloração branca. Devido a sua alta solubilidade em uma ampla variedade de solventes orgânicos, é particularmente adequado para a preparação de dispersão sólida pelo método de solvente (BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001).

A PVP K30 foi extensivamente estudada como um polímero em dispersões sólidas de ativos, devido a sua capacidade para retardar e inibir recristalização de fármacos devido à sua temperatura de transição vítrea elevada (SETHIA; SQUILLANTE, 2004; ZHANG et al., 2008).

3.2.3 Métodos para obtenção de dispersão sólida

Os métodos mais utilizados para preparação de DS são fusão por extrusão, aplicável a fármacos com ponto de fusão mais baixos, secagem por atomização por spray drying, fusão utilizando micro-ondas e evaporação do solvente por co-precipitação. têm sido utilizados para fármacos com alto ponto de fusão e baixa solubilidade em solventes orgânicos comum. A miscibilidade entre o fármaco e o

polímero é importante para a formação de um sistema de DS solúvel e estável (PATIL; BELGAMWAR; PATIL, 2013; SEO et al., 2012).

O método de extrusão é classificado como sistema de fusão sob temperatura controlada ou sistemas viscosos semissólidos. Este método é extensivamente aplicado na preparação de grânulos de liberação sustentada, de densidade, formato e tamanho uniformes (BREITENBACH, 2002).

Na preparação de DS a mistura fármaco-carreador é depositada no funil (tremonha), misturada e fundida pelo extrusor e moldada pela matriz. A vantagem do método de extrusão-fusão inclui baixa temperatura e tempo de residência inferior a 2 minutos, ausência de solventes orgânicos, operação contínua, controle dos processos de operação, pouco resíduo e facilidade de escalonamento. As desvantagens estão relacionadas com efeito negativo da força de cisalhamento na estrutura (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Fusão com extrusão de componentes miscíveis resulta na formação de solução sólida amorfa, enquanto extrusão de um componente imiscível leva à formação fármaco amorfo disperso em carreador cristalino (BREITENBACH, 2002).

A técnica por atomização por spray drying é uma tecnologia que necessita de alto investimento nas operações e instalações, porém o investimento é válido devido às diversas vantagens que podem ser obtidas através deste sistema. Vários estudos vêm sendo desenvolvidos na aplicabilidade desta técnica em fármacos da classe biofarmacêutica II (reduzida solubilidade e elevada permeabilidade), resultando em produtos com melhoria das propriedades físico-químicas, tais como tamanho de partícula, solubilidade e taxa de dissolução (CHAUHAN; SHIMPI; PARADKAR, 2005; CORRIGAN; HEALY; CORRIGAN, 2002).

A preparação de DS pelo método de fusão consiste no aquecimento do carreador até temperatura acima de seu ponto de fusão. O fármaco é então incorporado e homogeneizado na massa fundida. Para garantir uma mistura homogênea entre o fármaco e o carreador, o resfriamento da dispersão ocorre sobre agitação constante. Após solidificação do líquido, este é então pulverizado para se obter um pó com a granulometria desejada (ALDEN; NYSTROM; ALDEN, 1993; ALDEN; TEGENFELDT; SJOKVIST, 1992; JAFARI; DANTI; AHMED, 1988).

O processo de fusão é tecnicamente mais fácil que os demais. No entanto, uma limitação importante desta técnica de preparação é a estabilidade do fármaco na temperatura de fusão do carreador, que pode causar degradação, sublimação ou

transformação polimórfica. A decomposição durante a fusão pode ser evitada uma vez que esta é dependente da composição (fármaco:carreador), afetada pelo tempo de fusão e taxa de resfriamento (CARCAMANO; GANA, 1974; CHIOU, 1977).

A utilização de radiação de micro-ondas tornou-se um método reconhecido. A radiação de micro-ondas consiste em ondas eletromagnéticas com frequências entre 0,3-300 GHz, que passa através dos materiais e faz com que suas moléculas oscilem, gerando calor. Este método proporciona várias vantagens, como economia de energia, custos de preparação reduzidos, aquecimento volumétrico rápido e menor tempo de preparação (PATIL; BELGAMWAR; PATIL, 2013).

Uma das limitações na utilização do método de fusão é a compatibilidade entre fármaco e carreador. Quando o fármaco e o carreador são incompatíveis, poderá ocorrer à formação de uma DS não homogênea ou separação de fases, tais intercorrentes podem ser solucionados com a utilização de tensoativos (PATIL; BELGAMWAR; PATIL, 2013).

Na técnica por evaporação do solvente, o fármaco e o carreador são dispersos num mesmo solvente para posterior evaporação do mesmo até obtenção de um precipitado. O co-precipitado obtido é secado para remoção de solvente que possivelmente possa estar aderido às superfícies das partículas. Contudo, a eliminação do solvente utilizado nem sempre é completa, podendo haver a formação de solvato com qualquer um dos constituintes, ocasionando retenção de solvente no interior das partículas. Pode ocorrer o aparecimento de polimorfos, devido ao uso de diferentes solventes (ASSIS et al., 2012).

O método de evaporação do solvente tem como dificuldade a escolha do solvente, que deverá ser comum ao fármaco e ao carreador, assim como a completa eliminação do mesmo. O método de preparação por evaporação é indicado para fármacos termolábeis, passíveis de degradação na temperatura de fusão do carregador (SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Uma das vantagens encontradas por esse método é a possibilidade de utilização em fármacos termolábeis, devido a temperatura utilizada no processo ser relativamente baixa, o qual impede a degradação térmica do fármaco (ASSIS et al., 2012).

3.3 Técnicas para caracterização de dispersão sólida

3.3.1 Análises térmicas

Trata-se de um conjunto de técnicas, que com o auxílio de um programa de temperatura controlada, demonstram as propriedades físicas de uma substância e/ou seus produtos de reação (WENDHAUSEN, 2005). As técnicas usuais são análise termogravimétrica (TGA) e análise termogravimétrica derivada (DGT), análise térmica diferencial (DTA) e DSC (ARAÚJO et al., 2003).

Na técnica de DSC, mudanças no estado físico do fármaco podem ocorrer durante o aquecimento, e a presença do polímero pode influenciar o comportamento de fusão do fármaco, esta técnica fornece informações sobre o polimorfismo. Os polimorfos de uma substância são quimicamente idênticos, mas podem diferir significativamente em suas propriedades físicas (ARAÚJO et al., 2003).

3.3.2 Difração de raios-X

A DR-X auxilia na determinação do estado sólido do fármaco (dispersão molecular, amorfa ou cristalina, ou mistura). A técnica é bastante precisa para a caracterização dos fármacos sólidos e é fundamental para descrever o provável comportamento polimórfico de fármacos (CALLISTER; RETHWISH, 2009).

Para a determinação das fases cristalinas, os elétrons devem se encontrar na forma ordenada. E essa conformação é gerada por planos cristalinos separados entre si por distâncias equivalentes aos comprimentos de onda dos raios X. A difração ocorre quando um cristal é exposto a um feixe de raios X, e apresenta interação com os átomos das amostras (CALLISTER; RETHWISH, 2009).

3.3.3. Microscopia eletrônica de varredura

O uso dessa técnica vem se tornado muito relevante, pois fornece informações de detalhe, com aumentos de até 300.000 vezes. Sob condições de vácuo, a imagem eletrônica de varredura é formada pela incidência de um feixe de elétrons no material a ser analisado, que promove a emissão de elétrons secundários. A imagem eletrônica de varredura representa em tons de cinza o

mapeamento e a contagem de elétrons emitidos pelo material analisado (DUARTE et al., 2003).

Esta técnica é fundamental para estudar a morfologia do fármaco e do carreador, e eventualmente o polimorfismo existente no fármaco. Outra possibilidade é a visualização da distribuição das partículas do ativo no carreador (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

3.3.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia é uma técnica que permite a identificação de substâncias orgânicas ou minerais através dos grupos funcionais presentes nas moléculas em função da energia absorvida pela vibração das ligações químicas presente no produto analisado. Cada grupo funcional absorve energia em uma frequência característica de radiação no espectro do infravermelho (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Isso permite a identificação dos grupamentos funcionais, e por consequência a molécula.

A espectroscopia de infravermelho pode ser classificada em infravermelho próximo na região de 0,8 a 2,5 μm (12500-400 cm^{-1}); infravermelho médio na região de 2,5 a 50 μm (4000-200 cm^{-1}) e infravermelho distante na faixa de 50 μm a 1mm (200-10 cm^{-1}) (SANTOS, 2008).

A técnica combina a absorção das bandas na região do infravermelho em função das vibrações presentes nos grupamentos – CN, -NH, -OH e grupos funcionais SH (REICH, 2005).

3.4 Nanopartículas lipídicas sólidas

O termo nanopartícula tem sido aplicado para estruturas sólidas coloidais com diâmetro entre 1 a 1000 nm (KIP, 2004). O tamanho da partícula em escala nanométrica permite um aumento na velocidade de dissolução e solubilidade de saturação do fármaco, o que conduz a um melhor desempenho *in vivo*, devido ao aumento da área de superfície sendo usadas como sistemas de liberação de fármacos (BHATIA et al., 2006).

As NLS são sistemas carreadores de fármacos que foram desenvolvidos no intuito de melhorar algumas características de outros sistemas já conhecidos. Desta

forma as NLS mantem as vantagens das nanopartículas como matriz polimérica para liberação controlada, a permeabilidade dos lipossomas e a biodisponibilidades das emulsões. Entretanto evita diversas desvantagens como a dificuldade em escalonamento, presença de solvente orgânico residual ou problemas relacionados à estabilidade físico-química (FRICKER et al., 2010; HU et al., 2005; KRISTL et al., 2003; LIN et al., 2007; MÜLLER et al., 2008; MÜLLER; MADER; GOHLA, 2000; ZHANG et al., 2006).

As NLS são desenvolvidas utilizando excipientes seguros o que promove uma biocompatibilidade e citotoxicidade reduzida (SEVERINO et al., 2012) e são bastante atrativas para a indústria farmacêutica e cosmética, devido sua possibilidade de escalonamento, por serem sistemas de baixo custo e com grande potencial para a liberação controlada de fármacos (WISSING; KAYSERB; MÜLLER, 2004). Além disso, as NLS podem ser usadas por diversas vias de administração oral, tópica/transdérmica, intravenosa, intramuscular, intra-ocular, intranasal, retal, intraperitoneal, entre outras (SEVERINO et al., 2012).

As NLS são compostas basicamente por lipídios, tensoativos e água. O termo lipídio inclui triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos e ceras, como ácidos graxos, ésteres graxos, glicerídeos e ceras biodegradáveis. A combinação de diferentes tensoativos tende a prevenir, com maior eficiência, a aglomeração entre as partículas (MEHNERT; MADER, 2001). As NLS são formadas por uma fase externa, contendo tensoativo, água e possibilidade de co-tensoativo e por uma fase interna, contendo matriz lipídica e o fármaco (MANJUNATH; REDDY; VENKATESWARLU, 2005).

O tamanho final da partícula está diretamente relacionado ao tipo de lipídio ou lipídios que formarão a matriz lipídica, e deve ser um parâmetro cuidadosamente analisado. Partículas menores são formadas por ácidos graxos com cadeias curtas, e partículas maiores são resultado do aumento do conteúdo lipídico, resultando em uma maior polidispersidade (AHLIN; KRISTL; SMID-KOBAR, 1998; POTTA et al., 2011).

As partículas coloidais podem ser transportadoras de fármacos para sítios-alvo ou determinados órgãos específicos, isto pode aumentar significativamente a eficácia e segurança do tratamento, pois é um sistema diferenciado dos tradicionais, aumentando a quantidade de fármaco no local de ação e reduzindo desta forma os efeitos indesejáveis (WESTESEN, 2000).

3.5 Técnicas para obtenção das nanopartículas lipídicas sólidas

As nanopartículas podem ser obtidas por diversas técnicas, que por sua vez podem interferir nas características físicas e físico-químicas do sistema nanoestruturado. A seguir será descrito as principais técnicas descritas na literatura de obtenção das NLS. A escolha de determinada técnica depende: das propriedades físico-químicas e estabilidade do fármaco a ser incorporado, do tamanho de partícula desejado, da via de administração e do alvo a ser atingido.

3.5.1 Microemulsão

O método de microemulsão inicia-se fundindo o lipídio a uma temperatura de 5 a 10°C acima de seu ponto de fusão. A fase aquosa, contendo tensoativo e co-tensoativo é aquecida até alcançar a mesma temperatura de fusão dos lipídeos sendo, em seguida, vertida sobre a fase oleosa para formar a microemulsão. Sobre esta microemulsão é vertido água a 2 - 3°C sob agitação vigorosa. Este método foi desenvolvido e introduzido por Gasco (1993), com a finalidade de encapsular fármacos lipofílicos. Para encapsular fármacos hidrofílicos é necessário o desenvolvimento de uma emulsão inicial A/O/A ao invés de uma simples emulsão O/A. A desvantagem deste método é a dificuldade na remoção do excesso de água e a utilização de agentes tensoativos e co-tensoativos em altas concentrações (HOU et al., 2003; MÜLLER; MADER; GOHLA, 2000; UNER, 2006).

3.5.2 Emulsificação e evaporação do solvente

Na técnica de emulsificação e evaporação do solvente, o princípio ativo é incorporado por dissolução ou por dispersão num lipídio solubilizado em solvente orgânico imiscível com água. A fase orgânica é emulsificada numa fase aquosa contendo um tensoativo tipo O/A, as NLS são formadas através da precipitação do lipídio no meio aquoso após evaporação do solvente da fase orgânica. Trata-se de uma técnica frequentemente usada para incorporação de fármacos termolábeis, devido há não necessidade de altas temperaturas de aquecimento durante todo o processo de formação das nanopartículas, porém apresenta como desvantagem a

necessidade de uso de solventes orgânicos, o que pode gerar resíduos orgânicos nas partículas (MEHNERT; MADER, 2001; WISSING; KAYSERB; MÜLLER, 2004).

3.5.3 Difusão de solvente

Esta técnica utiliza solvente orgânico parcialmente solúvel com a água. O lipídio é dissolvido em uma solução de solventes saturados pela água, em seguida esta solução é emulsificada em uma solução aquosa saturada contendo tensoativos em temperatura acima do ponto de fusão do lipídio. As NLS são formadas após a evaporação do solvente orgânico em baixa pressão (ESTELLA-HERMOSO DE MENDOZA et al., 2009). Este método consiste na sua praticidade e fornece partículas em torno de 100 nm, porém apresenta algumas desvantagens como dificuldade de escalonamento e presença de solvente orgânico no produto final (HU et al., 2005).

3.5.4 Homogeneização à alta pressão

A homogeneização à alta pressão é uma técnica que pode ser facilmente escalonada e que vem sendo usada há anos na produção de nanoemulsões para nutrição parenteral (MEHNERT; MADER, 2001).

Os homogeneizadores a alta pressão exercem uma pressão entre 100 – 2000 bar, impulsionando o líquido através de um orifício na faixa de poucos micrômetros. As nanopartículas são formadas devido a alta tensão cisalhamento e das forças de cavitação empregadas no sistema (MEHNERT; MADER, 2001).

O processo de homogeneização à alta pressão pode desenvolver nanopartículas a elevadas temperaturas (homogeneização a quente) ou a baixas temperaturas (homogeneização a frio). Em ambas as técnicas o fármaco é solubilizado no lipídio fundido e aquecido de 5 a 10°C acima do ponto de fusão do lipídio (MÜLLER; MADER; GOHLA, 2000).

Na homogeneização a quente, ocorre a formação de uma pré-emulsão O/A de fármaco disperso em lipídio e tensoativos sob agitação a alta velocidade. A pré emulsão formada é passada pelo homogeneizador por uma pressão de 100 a 1500 bar, geralmente é necessário a repetição destes ciclos para obtenção da

nanoemulsão O/A quente. Esta nanoemulsão é refrigerada em temperatura ambiente até solidificação, ocorrendo a formação das NLS.

Na homogeneização a frio, ocorre a solidificação em gelo seco ou nitrogênio líquido da dispersão de fármaco e lipídio. Em seguida estas partículas passam pelo processo de moagem para obtenção de micropartículas de aproximadamente 50 a 100 μm . As micropartículas obtidas são emulsionadas e passadas pelo homogeneizador de alta pressão em temperatura a 0°C para obtenção das nanopartículas (LANDER et al., 2000; MEHNERT; MADER, 2001).

3.5.5 Tipos de nanopartículas lipídicas sólidas

Existem três tipos de modelo de incorporação do fármaco nas nanopartículas. A Figura 3 representa três modelos: matriz homogênea rica em fármaco (modelo 1), cápsula rica em fármaco (modelo 2) e núcleo rico em fármaco (modelo 3).

Figura 3 – Formas de incorporação do fármaco às NLS



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

O modelo 1, é formado quando o fármaco está disperso de maneira uniforme na matriz lipídica. Geralmente este tipo de modelo ocorre em partículas produzidas pela técnica homogeneização a frio. O modelo 2, é caracterizado por uma camada externa rica em fármaco e a camada interna é formada por lipídio. Ocorre devido a cristalização da matriz lipídica ser antes da que ocorre no fármaco, pelo seu maior ponto de cristalização. Isso faz com que o fármaco acabe sendo distribuído na superfície da partícula. Por fim, no modelo 3, temos a cristalização do fármaco antes da do lipídio, formando um núcleo rico em fármaco. Isto ocorre devido a supersaturação do fármaco no lipídio fundido após resfriamento, promovendo a cristalização (ESTELLA-HERMOSO DE MENDOZA et al., 2009; MEHNERT; MADER, 2001).

Para preparação e caracterização de NLS para veiculação de CUR, objetivo principal desta investigação foram utilizados os princípios de preparação de dispersões sólidas por co-precipitação e fusão, com a finalidade de melhorar a solubilidade da CUR em meio aquoso. Diferentes formulações foram utilizadas e caracterizadas. As formulações de DS mais promissoras foram utilizadas para preparar as NLS. A NLS foi a forma de carreador escolhida para a CUR devido à possibilidade de uso em diferentes formas farmacêuticas, diferentes vias de administração ou como forma farmacêutica definitiva ou de preparação extemporânea. A CUR é um composto potencialmente ativo, cujas propriedades farmacológicas estão extensivamente descritas na literatura e suas potencialidades são limitadas pela baixa taxa de dissolução e por ser quimicamente instável. Desta forma, o desenvolvimento de formas farmacêuticas medicamentosas para este fármaco é um desafio a ser vencido.

3.6 Referências

ABDOU, H. M. **Dissolution, bioavailability e bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company, 1989.

AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 40-59, 2009.

AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHARTI, A. C. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, Athens, v. 23, n. 1A, p. 363-398, 2003.

AHLIN, P.; KRISTL, J.; SMID-KOBAR, J. Optimization of procedure parameters and physical stability of solid lipid nanoparticles in dispersions. **Acta Pharmaceutica**, [s.l.], v. 48, p. 257-267, 1998.

AK, T.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **Chemico-Biological Interactions**, Amsterdam, v. 174, n. 1, p. 27-37, 2008.

ALDEN, M.; TEGENFELDT, J.; SJOKVIST, E. Struture of solid dispersions in the system polyethyleneglycol-griseofulvin with additions of sodium dodecyl sulfate. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 83, n. 1-3, p. 47-52, 1992.

ALMEIDA, L. P. **Caracterização de pigmentos da *Curcuma longa* L**: avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese *in vitro* na produção de curcuminóides e óleos essenciais. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

AMORIM, A. M. et al. Complexos formados entre poliacrilamida, polivinilpirrolidona e sais de Cu: propriedades térmicas e espectroscópicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAS, CBECIMat, 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2006.

ANITHA, A. et al. Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 83, n. 2, p. 452-461, 2011.

ARAÚJO, A. A. S. et al. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.

ARAÚJO, A. A. S. et al. Thermal analysis of the antirretroviral zidovudine (AZT) and avaluation of the compatibility with excipientes used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 260, n. 2, p. 303-314, 2003.

ASSIS, L. M. et al. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

BARRETO, M.; BICA, A.; FARINHA, A. Sistemas de classificação biofarmacêutica. **Bol. LEF**, Lisboa, v. 32, p. 2-10, 2002.

BHATIA, M. et al. Nanoparticle Technology for the Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs. **Pharmaceutical Technology**, [s.l.], v. 2, 2006.

BHAWANA et al. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 5, p. 2056-2061, 2011.

BIKIARIS, D. et al. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 439, n. 1-2, p. 58-67, 2005.

BIKIARIS, D. N. Solid dispersions, part I: recent evolutions and future opportunities in manufacturing methods for dissolution rate enhancement of poorly water-soluble drugs. **Expert Opinion on Drug Delivery**, London, v. 8, n. 11, p. 1501-1519, 2011.

BREITENBACH, J. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. **European Journal oh Pharmaceutics and Bipharmaceutics**, Stuttgart, v. 54, n. 2, p. 107-117, 2002.

BROMAN, E.; KHOO, C.; TAYLOR, L. S. A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 222, n. 1, p. 139-151, 2001.

BUHRMANN, C. et al. Curcumin mediated suppression of nuclear factor-kappaB promotes chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells in a high-density co-culture microenvironment. **Arthritis Research and Therapy**, London, v. 12, n. 4, p. R127, 2010.

CALLISTER, W. D. J.; RETHWISH, D. G. **Materials science and engineering**. 8th. ed. Philadelphia: Willeys & Sons, 2009.

CARCAMANO, E. C.; GANA, I. M. Eutetic mixtures and solid solution of acetylsalicylic acid and urea. Stability of acetylsalicylic acid. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 40, p. 487-493, 1974.

CHAUD, M. V. et al. Solid dispersions with hydrogenated castor oil increase solubility, dissolution rate and intestinal absorption of praziquantel. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 46, n.3, p. 473-481, 2010.

CHAUHAN, B.; SHIMPI, S.; PARADKAR, A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 219-230, 2005.

CHEN, C. et al. An in vitro study of liposomal curcumin: Stability, toxicity and biological activity in human lymphocytes and Epstein-Barr virus-transformed human B-cells. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 366, n. 1-2, p. 133-139, 2009.

CHIOU, W. L. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems: X-ray diffraction and aqueous solubility studies on griseofulvin-polyethyleneglycol 6000 systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 66, n. 7, p. 989-991, 1977.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 60, n. 9, p. 1281-1301, 1971.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

CIRRI, M. et al. Characterization of ibuprofen binary and ternary dispersion with hydrophilic carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 30, n. 1, p. 65-74, 2004.

CORRIGAN, D. O.; HEALY, N. M.; CORRIGAN, O. I. The effect of spray drying solutions of polyethylene glycol (PEG) and lactose/ PEG on their physicochemical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 235, n. 1-2, p. 193-205, 2002.

DORNELAS, C. B. et al. Preparação e avaliação reacional de nanocompósitos de PVP K-30 – montmorilonita (natural e organicamente modificada) por difração de raios X. **Polímeros**, São Carlos, v. 18, n. 2, p. 187-192, 2008.

DRESSMAN, J. B. et al. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 15, n. 1, p. 11- 22, 1998.

DUARTE, L. C. et al. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: exemplos brasileiros. **Pesquisas em Geociências**, Porto Alegre, v. 30, n. 2, p. 3-15, 2003.

EMARA, L. H.; BADR, R. M.; ELBARY, A. A. Improving the dissolution and bioavailability of nifedipine using solid dispersions and solubilizers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 28, n. 7, p. 795-807, 2002.

EPSTEIN, J.; SANDERSON, I. R.; MACDONALD, T. T. Curcumin as a the therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 11, p. 1545-1557, 2010.

ESTELLA-HERMOSO DE MENDOZA, A. et al. Lipid nanomedicines for anticancer drug therapy. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, Stevenson Ranch, v. 5, n. 4, p. 323-343, 2009.

FORSTER, A. et al. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs by solubility parameter calculation and thermal analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 226, n. 1-2, p. 147-161, 2001.

FRICKER, G. et al. Phospholipids and lipid-based formulations in oral drug delivery. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 27, n. 8, p. 1469-1486, 2010.

GASCO, M. R. **Method for producing solid lipid microspheres having a narrow distribution**. Washington: US Patent N° 5250236, 1993.

GILDA, S. et al. Activity of water-soluble turmeric extract using hydrophilic excipients. **Food Science and Technology**, Zürich, v. 43, n. 1, p. 59-66, 2010.

GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as "curecumin". From kitchen to clinic. **Biochemistry Pharmacology**, Oxford, v. 75, n. 4, p. 787-809, 2008.

GOHEL, M. C.; PATEL, L. D. Processing of nimesulide-PEG 400-PG-PVP solid dispersions: preparation, characterization and in vitro dissolution. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 29, n. 3, p. 299-310, 2003.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric – Chemistry, technology and quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

HENROTIN, Y. et al. Biological actions of curcumin on articular chondrocytes. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 18, n. 2, p. 141-149, 2010.

HERTWIG, L. F. V. **Plantas aromáticas e medicinais**. São Paulo: Icone, 1986.

HOU, D. et al. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). **Biomaterials**, Guilford, v. 24, n. 10, p. 1781-1785, 2003.

HU, F. Q. et al. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 45, n. 3-4, p. 167-173, 2005.

HU, J. et al. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 30, n. 3, p. 233-245, 2004.

JAFARI, M. R.; DANTI, A. G.; AHMED, I. Comparison of polyethyleneglycol, polyvinylpyrrolidone and urea as excipients for solid dispersion systems of miconazole nitrate. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 48, n. 1-3, p. 207-215, 1988.

JANSSENS, S. et al. Characterization of ternary solid dispersions of Itraconazole in polyethylene glycol 6000/polyvidonevinylacetate 64 blends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 69, n. 3, p. 1114-1120, 2008.

JUNYAPRASERT, V. B.; MORAKUL, B. Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hong Kong, v. 10, n. 1, p. 13-23, 2015.

JURENKA, J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of pre-clinical and clinical research. **Alternative Medicine Review**, Sandpoint, v. 14, n. 2, p. 141-153, 2009.

KARAVAS, E. et al. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug-polymer interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 66, n. 3, p. 334-347, 2007.

KAROLEWICZ, B. et al. Solid dispersion in pharmaceutical technology. Part I. Classification and methods to obtain solid dispersion. **Polimery w Medycynie**, Wroclaw, v. 42, n. 1, p. 17-27, 2012.

KIP, J. E. The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly watersoluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 284, n. 1-2, p. 109-122, 2004.

KRISTL, J. et al. Interactions of solid lipid nanoparticles with model membranes and leukocytes studied by EPR. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 256, n. 1-2, p. 133-140, 2003.

KURIEN, B. T. et al. Improving the solubility and pharmacological efficacy of curcumin by heat treatment. **Assay and Drug Development Technologies**, Larchmont, v. 5, n. 4, p. 567-576, 2007.

LANDER, R. et al. Gaulin homogenization: a mechanistic study. **Biotechnology Progress**, New York, v. 16, n. 1, p. 80-85, 2000.

LANGER, M. et al. Investigations on the predictability of the formation of glassy solid solutions of drugs in sugar alcohols. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 252, n. 1-2, p. 167-179, 2003.

LI, L.; BRAITEH, F. S.; KURZROCK, R. Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. **Cancer**, Honoken, v. 104, n. 6, p. 1322-1331, 2005.

LIN, X. et al. Preparation and characterization of monocaprato nanostructured lipid carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 311, n. 1-3, p. 106-111, 2007.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrinsolubilization of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 302, n. 1-2, p. 18-28, 2005.

LOFTSSON, T.; MÁSSON, M.; BREWSTER, M. E. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 93, n. 5, p. 1091-1099, 2004.

MAHESHWARI, R. K. et al. Multiple biological activities of curcumin: short review. **Life Sciences**, Oxford, v. 78, n. 18, p. 2081-2087, 2006.

MAHESHWARI, R. K.; JAGWANI, Y. Mixed Hydrotrophy: novel science of solubility enhancement. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Bombay, v. 73, n. 2, p. 179-183, 2011.

MAIA, N. B. A cúrcuma como corante. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS. **Anais...** Campinas, 1991.

MAIA, N. B. et al. Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de cúrcuma. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n. 1. p. 33-37, 1995.

MANJUNATH, K.; REDDY, J. S.; VENKATESWARLU, V. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, Barcelona, v. 27, n. 2, p. 1-20, 2005.

MAY, A. et al. Desenvolvimento e produtividade da cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em função de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínea, v. 7, n. 3, p. 1-7, 2005.

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

MENG, F. et al. Investigation and correlation of drug polymer miscibility and molecular interactions by various approaches for the preparation of amorphous solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 71, p. 12-24, 2015.

MESA, M. D. et al. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. **Ars Pharmaceutica**, Granada, v. 41, n. 3, p. 307-321, 2006.

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

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

OKADA, K. et al. Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. **The Journal of Nutrition**, Springfield, v. 31, n. 8, p. 2090-2095, 2001.

PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N. S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 201, n. 2, p. 131-150, 2000.

PARI, L.; TEWAS, D.; ECKEL, J. Role of curcumin in health and disease. **Archives of Physiology and Biochemistry**, Lisse, v. 2, n. 114, p. 127-149, 2008.

PATEL, R. P. et al. Physicochemical characterization and dissolution study of solid dispersions of furosemide with polyethylene glycol 6000 and polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Technologies**, Hockessin, v. 15, n. 3, p. 17-25, 2008.

PATIL, P. H.; BELGAMWAR, V. S.; PATIL, P. R. Enhancement of solubility and dissolution rate of poorly water soluble raloxifene using microwave induced fusion method. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 571-578, 2013.

POTTA, S. G. et al. Preparation and characterization of ibuprofeno solid lipid nanoparticles with enhanced solubility. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 28, n. 1, p. 74-81, 2011.

RAMA, A. C. R. et al. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 59-68, 2006.

RAMALINGAM, P.; KO, Y. T. Enhanced oral delivery of curcumin from N-trimethyl chitosan surface-modified solid lipid nanoparticles: pharmacokinetic and brain distribution evaluations. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 32, n. 2, p. 389-402, 2015.

REICH, G. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 57, n. 8, p. 1109-1143, 2005.

ROUCHOTAS, C.; CASSIDY, O. E.; ROWLEY, G. Comparison of surface modification and solid dispersion techniques for drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 195, n. 1-2, p. 1-6, 2000.

SAERS, E. S.; NYSTROM, C.; ALDEN, M. Physicochemical aspects of drug release. XVI. The effect of storage on drug dissolution from solid dispersions and the influence of cooling rate and incorporation on surfactant. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 90, n. 2, p. 105-118, 1993.

SANTOS, A. S. **Avaliação das propriedades do estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona**. 2008. 107f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutectic mixture: comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 9, n. 11, p. 866-872, 1961.

SEO, S.W. et al. Preparation and pharmacokinetic evaluation of curcumin solid dispersion using Solutol® HS15 as a carrier. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 424, n. 1-2, p. 18-25, 2012.

SERAJUDIN, A. T. M. Solid Dispersion of poorly water-soluble drugs: Early promises subsequent problems, and recent breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 88, n. 10, p. 1058-1066, 1999.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersion of carbamazepine in pvpk30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 272, n. 1-2, p. 1-10, 2004.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, Boca Raton, v. 20, n. 2-3, p. 215-247, 2003.

SEVERINO, P. et al. Current state-of-art and new trends on lipid nanoparticles (SLN and NLC) for oral drug delivery. **Journal of Drug Delivery**, Cairo, n. 750891, p. 1-10, 2012.

SHARGEL, L.; YU, A. B. C. Biopharmaceutics. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J. C. (Orgs.). **Encyclopedia of pharmaceutical technology**. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 156-176.

SOMPARN, P. et al. Comparative antioxidant activities of curcumin and its demethoxy and hydrogenated derivatives. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 30, n. 1, p. 74-78, 2007.

SRINARONG, P. et al. Improved dissolution behavior of lipophilic drugs by solid dispersions: the production process as starting point for formulation considerations. **Expert Opinion on Drug Delivery**, London, v. 8, n. 9, p. 1121-1140, 2011.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica**: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: [s.n.], 1999.

UNER, M. Preparation, characterization and physic-chemical properties of SLN and NLC: their benefits as colloidal drug carrier system. **Die Pharmazie**, Berlin, v. 61, n. 5, p. 375-386, 2006.

VASANTHAVADA, M. et al. Phase behavior of amorphous molecular dispersions II: role of hydrogen bonding in solid solubility and phase separation kinetics. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 22, n. 3, p. 440-448, 2005.

VERMA, M. M. et al. Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam, nicotinamide solid dispersion formulations. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v. 142, n. 3, p.119-24, 2003.

WARREN, D. B. et al. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: a mechanistic basis for utility. **Journal of Drug Targeting**, Yverdon, v. 18, n. 10, p. 704-31, 2010.

WENDHAUSEN, P. A. Caracterização de matérias III. **Análises Térmicas**, [s.l.], v. 1, p. 223-245, 2005.

WESTESEN, K. Novel lipid-based colloidal dispersions as potential drug administration systems - expectations and reality. **Colloid Polymer Science**, Darmstadt, v. 278, n. 7, p. 608-618, 2000.

WEUTS, I. et al. Salt formation in solid dispersions consisting of polyacrylic acid as a carrier and three basic model compounds resulting in very high glass transition temperatures and constant dissolution properties upon storage. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 25, n. 4-5, p. 387-393, 2005.

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

XIAO, Z. et al. Potential therapeutic effects of curcumin: relationship to microtubule-associated proteins 2 in Abeta1-42 insult. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1361, p. 115-123, 2010.

ZHANG, N. Lectin-modified solid lipid nanoparticles as carriers for oral administration of insulin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 327, n. 1-2, p. 153-159, 2006.

ZHANG, X. et al. Physical characterization of lansoprazole/PVP solid dispersion prepared by fluid-bed coating technique. **Powder Technology**, Lausanne, v. 182, n. 3, p. 480-485, 2008.

CAPÍTULO II

4 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÃO SÓLIDA DE CURCUMINA COM POLIVINILPIRROLIDONA K30

4.1 Resumo

A curcumina (CUR) é um pigmento amarelo encontrado no rizoma da planta *Curcuma longa* Linn. Embora apresente um grande potencial terapêutico, a biodisponibilidade da CUR é limitada pela taxa de dissolução. Este estudo teve como objetivo preparar dispersões sólidas (DS) da CUR com o carreador polivinilpirrolidona K30 (PVP) e avaliar as características físico-químicas das formulações obtidas comparando com as misturas físicas (MF) e CUR não processada. Neste estudo a DS foi obtida pelos processos de co-precipitação e fusão, preparadas com PVP K30 nas proporções de massa de 1:1; 1:2 e 2:1. As DS foram avaliadas quanto ao equilíbrio da solubilidade (ES) e teor da CUR presente nas formulações. As características físico-químicas das DS foram avaliadas por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Difração de Raio-X (DR-X) e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). A morfologia das partículas foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O ES apresentou melhor resultado para dispersão sólida obtida por fusão (DSf) na proporção de massa 1:2. As curvas de DSC e DR-X mostraram mudança no estado cristalino da CUR na presença de PVP K30. A morfologia das DS observadas por MEV sugere alteração no estado cristalino da CUR. As curvas obtidas por FTIR mostraram que os estiramentos dos grupamentos químicos da CUR permaneceram inalterados tanto na MF como na DS. A tecnologia das DS aumentou a solubilidade da CUR em água. O resultado foi melhor para DSf CUR:PVP K30 1:2 sendo esta selecionada para a incorporação nas nanopartículas lipídicas sólidas (NLS).

Palavras-chave: Curcumina. Dispersão sólida. Polivinilpirrolidona.

4.2 Abstract

Curcumin (CUR) is a yellow pigment found on *Curcuma longa* Linn rhizomes. Despite the fact of having a great therapeutic potential, CUR's bioavailability is limited by its dissolution rate. This study aimed the preparation of CUR's solid dispersions (SDs) using polyvinylpyrrolidone K30 (PVP K30) as carrier and the evaluation of physicochemical properties of the prepared formulations comparing them to the physical mixtures (PMs) and unprocessed CUR. On this study, SDs were obtained through co-precipitation and fusion techniques, formulated with PVP K30 using the following mass ratios: 1: 1; 1: 2 and 2: 1. The SDs were evaluated by Solubility Equilibrium (SE) and CUR's percentage on the formulations. The physicochemical characteristics of the SDs were evaluated by Differential Scanning Calorimetry (DSC), X-Ray Diffraction (XRD) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Particles morphology was characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM). The SE showed better results for fusion-made solid dispersion FSD (1: 2). The DSC and XRD curves showed changes on CUR's crystalline state in the presence of PVP K30. SD's morphology observed by SEM suggests a change on CUR's crystalline state. The curves obtained by FTIR showed that CUR's chemical groups stretching remained the same on both PMs and SDs. The SDs technology increased CUR's solubility in water. The best result obtained was DSF CUR: PVP K30 1: 2, selected for incorporation on solid lipid nanoparticles (SLN).

Keywords: Curcumin. Solid dispersions. Polyvinylpyrrolidone.

4.3 Introdução

A dispersão sólida (DS) de fármaco com carreadores hidrossolúveis ou hidrodispersíveis é uma estratégia utilizada para superar as limitações de solubilidade em água. A DS pode ser o método utilizado para melhorar as características de dissolução do fármaco hidrofóbico, uma vez que a mesma é um fator limitante para sua biodisponibilidade. Este processo vem sendo largamente utilizado e tem se mostrado eficiente em melhorar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, como é o caso da Curcumina (CUR), fármaco de estudo deste trabalho.

A CUR é um composto fitoquímico com diversas propriedades terapêuticas, porém é muito pouco solúvel em água. Portanto, a hidrofiliabilidade da CUR precisa ser melhorada para controlar a liberação e aumentar a biodisponibilidade dos curcuminóides. Como carreador para preparação das DS foi utilizado a polivinilpirrolidona (PVP) K30, devido sua compatibilidade, baixa toxicidade, alta solubilidade aquosa e tolerância fisiológica.

Neste capítulo será abordado a preparação e avaliação de DS contendo CUR preparadas pelas técnicas de co-precipitação e fusão utilizando como carreador a PVP K30.

4.4 Objetivo

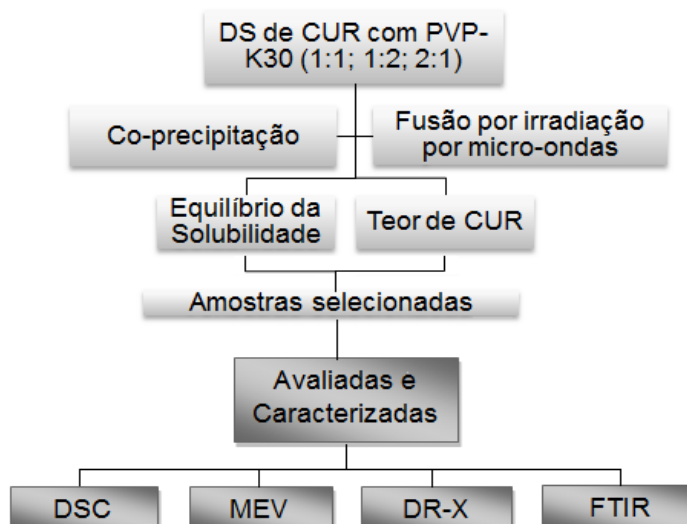
Preparar DS de CUR com PVP K30 pelo método de co-precipitação e pelo método de fusão usando radiação de microondas.

Avaliar as propriedades físicas e físico-químicas, sendo a interação e alteração entre os constituintes, através das técnicas espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e calorimetria exploratória diferencial (DSC); aspectos morfológicos, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV); cristalinidade, através de difração de raio-X (DR-X), e possível degradação das DS em comparação com as misturas físicas (MF) e CUR não processada.

4.5 Desenho experimental

Neste capítulo foram realizadas etapas de preparação e caracterização das DS e das matérias primas conforme demonstrado na Figura 4.

Figura 4 – Desenho experimental das etapas de desenvolvimento e caracterização das dispersões sólidas



CUR - curcumina, PVP - polivinilpirrolidona, DSC – calorimetria exploratória diferencial, MEV – microscopia eletrônica de varredura, DR-X – difração de raio X, FTIR - espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

Fonte: Elaboração própria.

4.6 Material e Métodos

A curcumina (Sigma-Aldrich Co, Saint Louis, USA) grau de pureza de 99,8% e a polinilpirrolidona K30 (Sigma-Aldrich Co, Saint Louis, USA). As demais matérias primas utilizadas eram de grau de pureza para uso farmacêutico ou analítico.

4.6.1 Preparação das dispersões sólidas de curcumina com polivinilpirrolidona K30

As DS foram preparadas pelas técnicas de co-precipitação e fusão por micro-ondas.

As DS contendo CUR dispersa em PVP-K30 foram preparadas pela técnica de co-precipitação nas proporções de 1:1; 1:2 e 2:1 (m/m). A CUR e a PVP-K30 foram pesadas e dissolvidas separadamente em etanol 95% (v/v). A evaporação do

solvente foi feita sob pressão de ~650 mmHg, na temperatura de 50 ± 2 °C, utilizando evaporador rotativo (TE-211,TECNAL, Piracicaba, Brasil).

As DS preparadas por fusão foram induzidas por radiação de micro-ondas (Brastemp Ative-BMS45A, São Paulo, Brasil) nas proporções de CUR:PVP K30 1:1, 1:2, 2:1 (m/m). As amostras foram pesadas e homogeneizadas em cadinho de porcelana e umedecidas com água purificada e em seguida submetidas à radiação por micro-ondas em potência de 420W até fusão completa do material. As DS foram pulverizadas e padronizadas em tamis de 60 mesh (250 μ m). As amostras foram mantidas em ambiente com 18-20% de umidade relativa até peso constante e armazenadas ao abrigo da luz em recipientes hermeticamente fechados à temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

4.6.2 Preparação das MF de CUR com polivinilpirrolidona K30

As MF foram preparadas pela mistura de CUR com PVP-K30 nas mesmas proporções em que foram preparadas as DS (2:1; 1:1 e 1:2 m/m). Quantidades apropriadas da CUR e da PVP-K30 foram pesadas e misturadas em gral com auxílio de pistilo durante 10 minutos. As amostras foram mantidas em ambiente com 18-20% de umidade relativa até peso constante e armazenadas ao abrigo da luz em recipientes hermeticamente fechados à temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

4.7 Espectrofotometria de varredura para determinação do pico máximo de absorbância e construção da curva analítica de curcumina

O comprimento de onda de maior absorbância foi determinado em espectrofotômetro UV-VIS (FEMTO modelo 800XI) por varredura no espectro entre 190 a 800 nm, usando solução etanólica de CUR ($2 \mu\text{g. mL}^{-1}$).

Para a construção da curva analítica, soluções etanólicas da CUR nas concentrações de $0,5 \mu\text{g. mL}^{-1}$, $1,0 \mu\text{g. mL}^{-1}$, $2,0 \mu\text{g. mL}^{-1}$, $3,0 \mu\text{g. mL}^{-1}$, $4,0 \mu\text{g. mL}^{-1}$ e $5,0 \mu\text{g. mL}^{-1}$ foram preparadas em triplicata. A média das absorbâncias para as diferentes concentrações, o desvio padrão e o coeficiente de variação foram determinados matematicamente. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram determinados através da curva analítica. Foi utilizado solução etanólica como branco para zerar o equipamento.

A regressão linear foi determinada pelo método dos mínimos quadrados, bem como o seu correspondente coeficiente de correlação linear (r) usando software excel 15.0.4420.1017 – Microsoft.

4.8 Determinação do teor da curcumina por espectrofotometria ultravioleta

O teor (%) de CUR, presente nas amostras de DS-CUR:PVP foi determinado pela extração da CUR com etanol 95%. Uma massa de DS equivalente a 1µg de CUR foi pesada e transferida para balão volumétrico com capacidade para 10 ml e dissolvida em etanol 95% (v/v). As soluções foram filtradas através de membrana de celulose com porosidade de 0,45µm. A concentração de CUR nas DS foi determinada por espectroscopia no comprimento de onda de 427nm (maior pico de absorbância). As concentrações de CUR das amostras foram calculadas utilizando a equação da reta.

As comparações estatísticas entre as diferentes formulações foram realizadas utilizando-se a ferramenta ANOVA com pós-teste de Tukey e intervalo de confiança de 95% e significância com $p < 0,05$.

4.9 Caracterização físico-química das dispersões sólidas

Todas as DS, obtidas por co-precipitação e fusão e MF foram inicialmente caracterizadas e selecionadas considerando o teor de CUR e o equilíbrio de solubilidade (ES). A partir desses resultados foram selecionadas as melhores formulações de DS para as análises de morfologia por MEV, DR-X, DSC e FTIR.

4.9.1 Equilíbrio de solubilidade em água

Para avaliar o equilíbrio de solubilidade da CUR, as amostras de DS e MF foram pesadas em balança analítica e dispersas em 20,0 mL de água purificada para uma concentração final de 100 µg.mL⁻¹. Esta concentração foi estabelecida com base em resultados preliminares para o ES da CUR. Nesta concentração a massa de CUR está acima da sua concentração de equilíbrio em água purificada. O teste foi feito em triplicata. As DS foram mantidas sob agitação constante por 48h em câmara de agitação orbital, com temperatura controlada para 25°C (TE-4200,

TECNAL, Piracicaba, Brasil). As amostras foram centrifugadas (Rotor LS3/Combate, CELM, São Paulo, Brasil) a 3000 rpm durante 10 min. e o sobrenadante foi recolhido, para determinar a massa de CUR dissolvida na água. O sobrenadante foi recolhido e devidamente diluído para uma concentração teórica entre 0,5 a 5 ug/mL⁻¹ para permitir a leitura por espectrofotometria UV (427 nm) na faixa de absorbância da curva analítica. As concentrações de CUR nas amostras foram calculadas utilizando a equação da reta.

As comparações estatísticas entre as diferentes formulações foram realizadas utilizando-se a ferramenta ANOVA com pós-teste de Tukey e intervalo de confiança de 95% e significância com $p < 0,05$.

4.9.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Uma massa das partículas de DS-CUR colocada em uma fita adesiva de carbono dupla face foi fixada a um suporte de alumínio. Os suportes foram recobertos com íons de ouro no metalizador (SC7620 SpatterCoater), para obter um filme com espessura de recobrimento de aproximadamente 200Å. Após a ionização da placa metálica a corrente foi ajustada para 3mA durante 3 min. As imagens foram aleatoriamente capturadas e digitalizadas (Microscópio Eletrônico de Varredura-Leo 440i, Inglaterra).

4.9.3 Difração de raios-X

Os estudos de DR-X das amostras de DS-CUR foram realizados utilizando difratômetro de raios X com níquel purificado e radiação de cobre ($\lambda=1,54060 \text{ \AA}$). Todas as análises foram realizadas com difração de ângulo de 2θ , variando de 5 a 40°, passo: 0,02 graus, velocidade 0,02 °.s⁻¹. A voltagem e corrente usadas foram 40 kV e 40pA.

4.9.4 Calorimetria exploratória diferencial

As medidas de DSC foram realizadas utilizando um Calorímetro Diferencial de Varredura (*Thermal Analyzer* TA 60W – Shimadzu DSC-60, Kyoto, Japan) equipado com controlador de fluxo modelo FC 60A, *software* e interface para controle e

aquisição de dados e sistema de selagem de cadinho. Os termogramas das amostras foram obtidos utilizando cadinho de alumínio hermeticamente fechado, o teste foi realizado sob atmosfera de dinâmica de nitrogênio com fluxo de $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ na faixa de aquecimento de $10 - 200^\circ\text{C}$, sob uma razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. A massa de amostra empregada para análise das DS, MF, polímeros e CUR foi de aproximadamente 2 mg.

4.9.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros de FTIR das amostras foram obtidos através do espectrofotômetro (IRAffinity 1S – Shimadzu Corp. Japão). A massa aproximadamente 2 mg da amostra foi misturada a 300 mg de KBr para formação da pastilha. A faixa de escaneamento foi entre 400 e 4000 cm^{-1} . Os espectros foram normalizados e as bandas de vibração foram associadas aos principais grupos químicos.

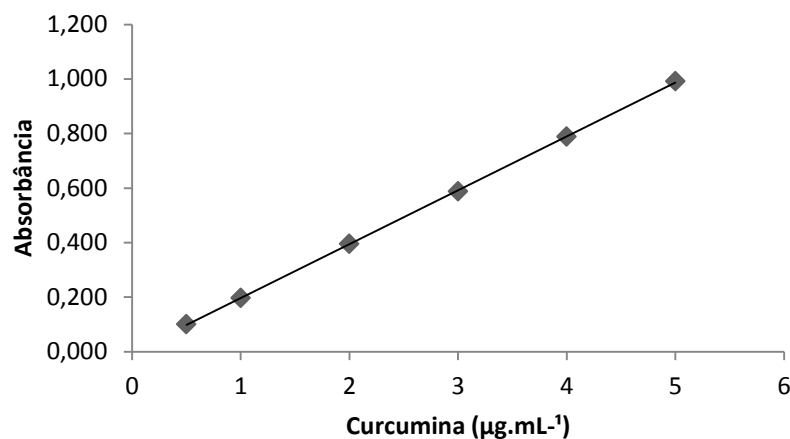
4.10 Resultados e discussão

4.10.1 Curva analítica de curcumina

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (BRASIL, 2003). O espectro de varredura apresentou pico máximo de absorção no comprimento de onda de 427 nm . O mesmo resultado foi descrito na literatura por Li et al. (2015).

Os resultados obtidos com a curva analítica são apresentados na Figura 5 são a média de 3 determinações. A média das leituras (Tabela 1) foram plotadas em um gráfico cartesiano para avaliação da linearidade, a qual mostra a correlação entre a concentração e a absorbância de CUR.

Figura 5 – Curva Analítica para a CUR em solução etanólica 95% (v/v)



Fonte: Elaboração própria.

Tabela 1 – Resultados da absorbância da CUR em solução etanólica. Os resultados expressam a média (n=3), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) para cada concentração de CUR

Concentração (ug.mL-1)	Média	DP	CV%
0,5	0,1080	0,0014	1,296296
1	0,2057	0,0017	0,82658
2	0,3637	0,0055	1,514456
3	0,5503	0,0072	1,314508
4	0,6957	0,0025	0,361755
5	0,8733	0,0148	1,699652

Fonte: Elaboração própria.

O coeficiente de correlação linear igual a 0,999 e um coeficiente de variação menor que 2%, estes resultados são um indicativo de linearidade do método utilizado, para uma faixa de concentração entre 0,5 a 5 µg/mL⁻¹ no comprimento de onda de 427 nm. Os parâmetros da curva analítica da CUR são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Equação da reta, coeficiente de correlação linear da curva analítica da curcumina, limite de detecção e limite de quantificação.

Parâmetros Avaliados	Resultados obtidos
Equação da reta	$y = 0,1685x - 0,0308$
Coeficiente de correlação linear (r)	0,999
Limite de Detecção (LOD)	0,043238 µg/mL
Limite de Quantificação (LOQ)	0,144128 µg/mL

Fonte: Elaboração própria.

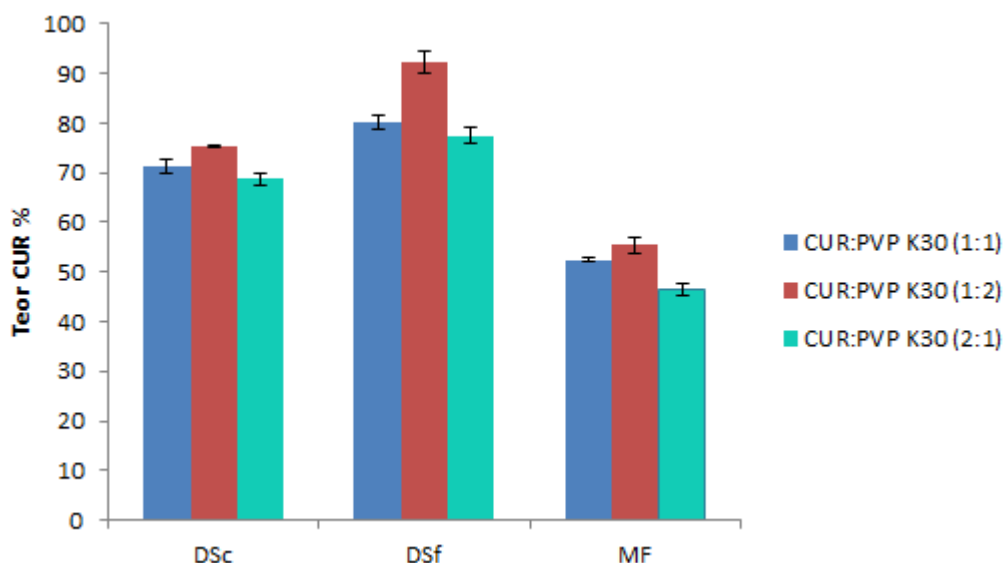
O LOD representa a concentração mínima que é detectável e o LOQ a menor concentração que pode ser quantificada exatamente (RIBANI et al., 2004).

4.10.2 Determinação do teor da curcumina por espectrofotometria ultravioleta visível (UV-VIS)

Os resultados da avaliação de teor de CUR nas amostras de Dispersão Sólida obtida por co-precipitação (DSc) (1:1, 1:2 e 2:1), dispersão sólida obtida por fusão (DSf) (1:1, 1:2 e 2:1) e MF (1:1, 1:2 e 2:1), são mostrados na Figura 6, sendo a média de 3 determinações. Nas DS, o teor de CUR foi superior em relação às MF. Os resultados mostram que concentrações crescentes de PVP K30 aumentam a solubilidade da CUR em função da molhabilidade conferida pelo polímero.

A DSf CUR:PVP K30 1:2 apresentou um teor de $92,2 \pm 1,3\%$, sendo 36,8% a mais que o teor da MF CUR:PVP K30 1:2, evidenciando a influência da técnica de preparação da DS. O teste foi realizado com um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$)

Figura 6 – Teor de Curcumina nas amostras de dispersão sólida obtida por co-precipitação (DSc 1:1; 1:2; e 2:1 m:m) DS obtida por fusão (DSf 1:1; 1:2; e 2:1 m:m) e MF (1:1; 1:2; e 2:1 m:m).



Fonte: Elaboração própria.

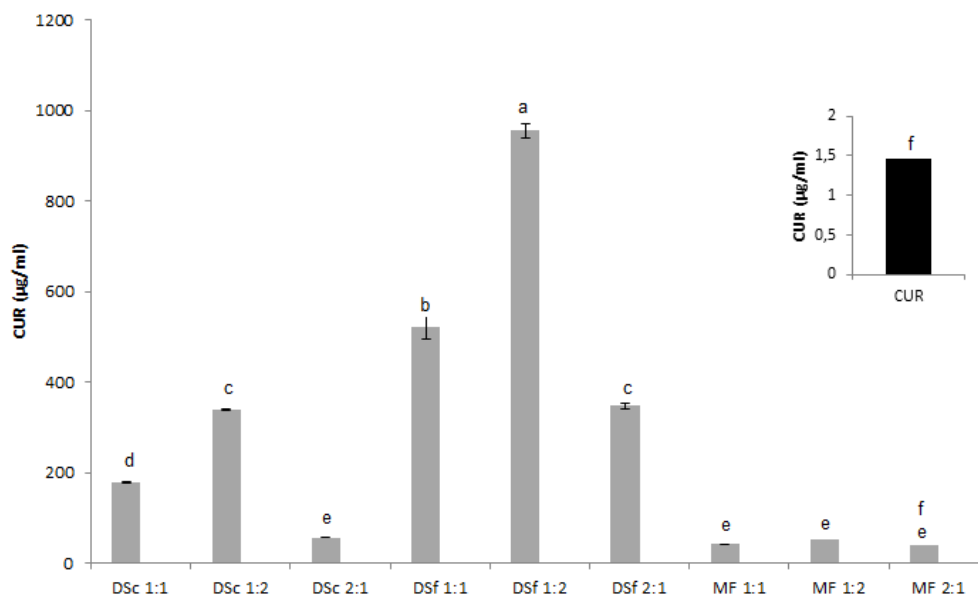
4.11 Caracterização das dispersões sólidas

4.11.1 Equilíbrio da solubilidade

Os resultados do estudo do equilíbrio da solubilidade das DS de CUR e MF são apresentados na Figura 7. A análise dos resultados mostra um aumento da quantidade de CUR dissolvida na presença de PVP K30 tanto para as DS por fusão como para co-precipitação. A solubilidade da CUR nas proporções MF CUR:PVP 1:2; 1:1 e 2:1 não apresentou diferença significativa (para uma significância de $p > 0,05$) do aumento da solubilidade de uma em relação à outra.

Entre as diferentes amostras das dispersões sólidas e misturas físicas, as dispersões sólidas preparadas pela técnica de fusão mostraram serem eficientes para o aumento da solubilidade com o polímero utilizado. Com a utilização do PVP K30 o melhor resultado de solubilidade foi apresentado pela técnica de fusão na proporção de 1:2 (m:m), em comparação com o equilíbrio da solubilidade da CUR ($1,47 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Isto pode ter ocorrido devido à conversão total ou parcial do estado cristalino da CUR em forma amorfa ou pelo aumento da hidrofiliicidade e da área de superfície da CUR. Os estudos de DSC e DR-X são necessários para esclarecer o efeito do polímero e do processo de preparação das DS sobre a solubilidade.

Figura 7 – Equilíbrio de solubilidade da CUR em água ($\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$) para as amostras de DS obtida por co-precipitação (DSc 1:1; 1:2; e 2:1 m:m), DS obtida por fusão (DSf 1:1; 1:2; e 2:1 m:m), MF (1:1; 1:2; e 2:1 m:m) e CUR não processada. ("insert"). As letras iguais indicam que não há diferença significativa entre as médias dos valores ($p>0,05$) ($n=3$). Os demais resultados são estatisticamente diferentes



Fonte: Elaboração própria.

A CUR pura exibe uma lenta e baixa taxa de dissolução em água devido à sua hidrofobicidade, que causa a flutuação do pó na superfície do meio de dissolução, reduzindo a área de contato com o solvente (KAEWNOPPARAT et al., 2009). Os resultados do estudo de equilíbrio de solubilidade das DS de CUR com PVP mostram um aumento da solubilidade da CUR em água de 720 vezes maior que o equilíbrio da solubilidade da CUR ($1,47 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$) não processada para DS 1:2 obtida pela técnica de fusão.

Em relação à MF 1:2 e a DSc 1:2 a solubilidade da CUR na DSf 1:2 foi, respectivamente 36,5 vezes e 242,14 vezes maior, evidenciando que o aumento da solubilidade depende do carreador e da técnica de preparação da DS.

4.11.2 Microscopia eletrônica de varredura

A principal razão desta técnica é a alta resolução que pode ser obtida quando as amostras são observadas, oferecendo informações em detalhe, com aumento de até 300.000 vezes. Outra importante característica do MEV é a realização da análise em pequenos aumentos e com profundidade de foco (DEDAVID; GOMER; MACHADO, 2007).

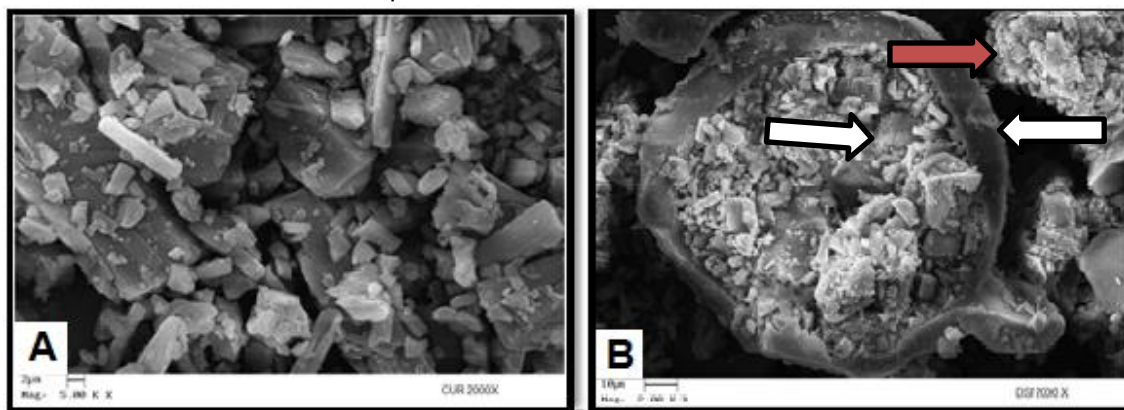
A análise MEV foi realizada apenas na DSf CUR:PVP K30 1:2 que apresentou os melhores resultados para teor e solubilidade em comparação a CUR livre.

A PVP K30 é caracterizada por partículas esféricas de natureza amorfa (PARADKAR et al., 2004). Na Figura 8A a fotomicrografia da CUR pura é apresentada com um aumento de 2000 vezes, onde é possível observar uma estrutura cristalina retangular com bordas irregulares e tamanhos variados. O mesmo resultado foi descrito por feitas por Arya e Pathak (2014).

A Figura 8B mostra a DSf CUR:PVP K30 (1:2) com aumento de 2000 vezes. A imagem sugere uma mudança no estado cristalino da CUR (seta vermelha) e mostra partículas cristalinas de CUR misturadas e envolvidas por PVP K30 (setas brancas).

A comparação entre as imagens da Figura 8A e 8B sugere a alteração física dos cristais de CUR, que influenciaram no aumento da solubilidade aquosa da CUR. A análise dos resultados de DSC e DR-X são necessárias para uma avaliação mais conclusiva.

Figura 8 – Fotomicrografias de amostra de CUR livre (A) e DSf CUR: PVP 1:2 (B) obtidas por microscopia eletrônica de varredura no aumento de 2000x. As setas brancas indicam a presença da PVP K30 modificada pela fusão, e a seta vermelha CUR no estado amorfo



Fonte: Elaboração própria.

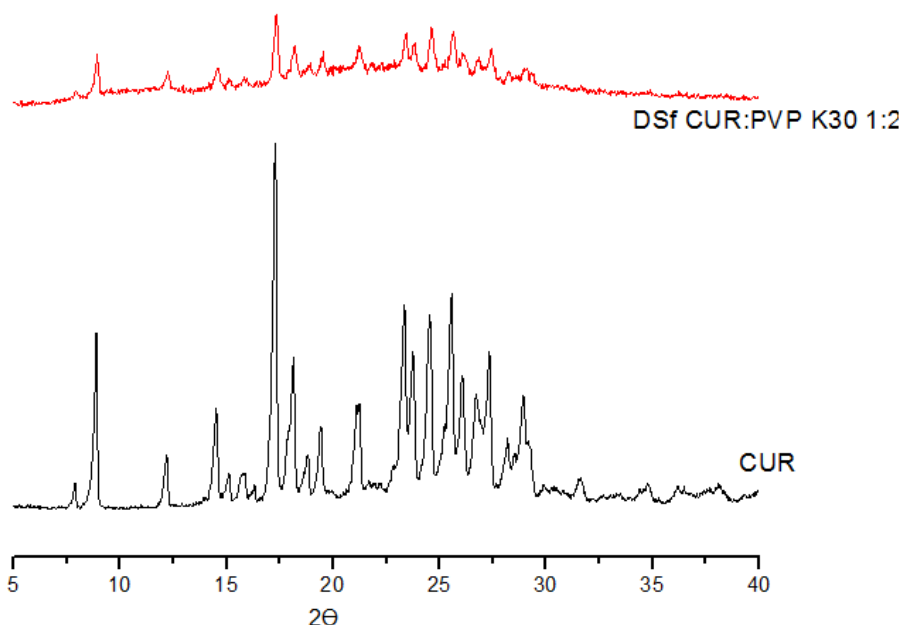
4.11.3 Difração de raios-X

A análise DR-X foi realizada apenas para DSf CUR:PVP K30 1:2 cujos resultados para teor e solubilidade foram superiores aos demais.

O difratograma da CUR não processada e da DSf CUR:PVP K30 1:2 são apresentados na Figura 9. O difratograma da CUR exibiu vários picos de alta

intensidade entre 7° e 27° 2θ , confirmando a cristalinidade do composto, estes mesmos resultados foram encontrados por Li et al. (2015).

Figura 9 – Difratoograma das amostras de CUR não processada e da DSf CUR:PVP K30 1:2



Fonte: Elaboração própria.

Através da análise do difratograma de DSf CUR:PVP K30 1:2 pode-se observar pequenos picos referentes aos resíduos cristalinos de CUR, porém com elevada redução na intensidade dos picos de cristalinidade. Estes resultados contribuem para explicar o aumento da solubilidade da CUR nas DS com PVP K30 obtidas por fusão com micro-ondas (DSf 1:2). Resultados semelhantes foram encontrado por Paradkar et al. (2004), para preparações de DS de CUR com PVP K30 por co-precipitação usando *spray drying*.

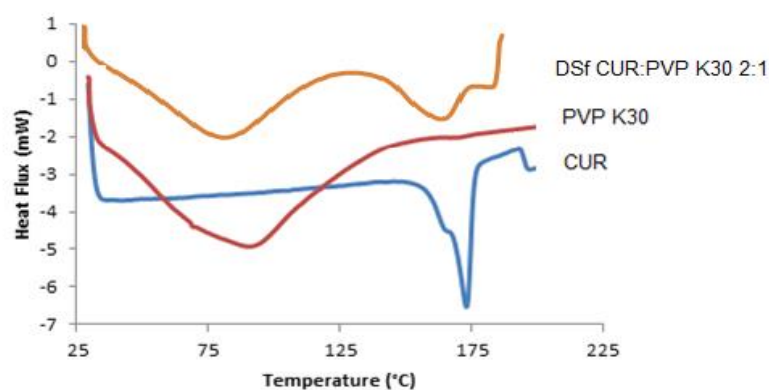
A obtenção de um difratograma com características de um material amorfo, ou seja, sem picos finos bem definidos, pode ser um indicativo da ocorrência de complexação (CORTI et al., 2007). Os resultados de DR-X para DSf CUR: PVP K30 1:2 sugerem ausência de complexação. No entanto, os resultados de FTIR deverão confirmar esta sugestão.

Embora, tenha ocorrido uma redução da intensidade dos picos da CUR não é possível afirmar que ocorreu uma modificação completa do estado cristalino para amorfo como indicado nas curvas de DSC.

4.11.4 Calorimetria exploratória diferencial

As curvas termoanalíticas das amostras de CUR não processada, PVP K30 e DSf CUR:PVP K30 2:1 são apresentadas na Figura 10. A curva de DSC da CUR exibe um evento endotérmico agudo em 173,28°C, com um consumo de energia (ΔH (J/g) de - 104,35) característico do processo de fusão deste composto confirmando os resultados encontrados na literatura por Basnet e Skalko-Basnet (2011).

Figura 10 – Curvas termoanalíticas das amostras de CUR não processada, PVP K30 e DSf CUR:PVP K30 2:1



Fonte: Elaboração própria.

O perfil da curva termoanalítica da PVP K30 (Figura 10) exibe um evento endotérmico na faixa temperatura entre 50 e 150°C correspondente à desidratação do polímero e característicos de substâncias amorfas e higroscópicas (SETHIA; SQUILLANTE, 2004; ZHANG et al., 2008).

Na análise da curva DSC da DSf CUR:PKP K30 1:2 indica a ocorrência de 2 eventos térmicos um característico da perda de água do PVP K30 e o outro (175°C) correspondente à fusão dos cristais de CUR remanescentes na DS. Este resultado evidencia a redução da cristalinidade da CUR observada na MEV (Figura 8) e nos difratogramas de raios-X (Figura 9).

A redução parcial da cristalinidade da CUR nas DS contribuiu para explicar o aumento da solubilidade da CUR. A presença do pico endotérmico na faixa entre 50 e 150°C na curva DSC da DS sugere que a DS é higroscópica, uma vez que a água foi removida durante o processo de preparação da DS por fusão (SETHIA; SQUILLANTE, 2004; ZHANG et al., 2008).

4.11.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

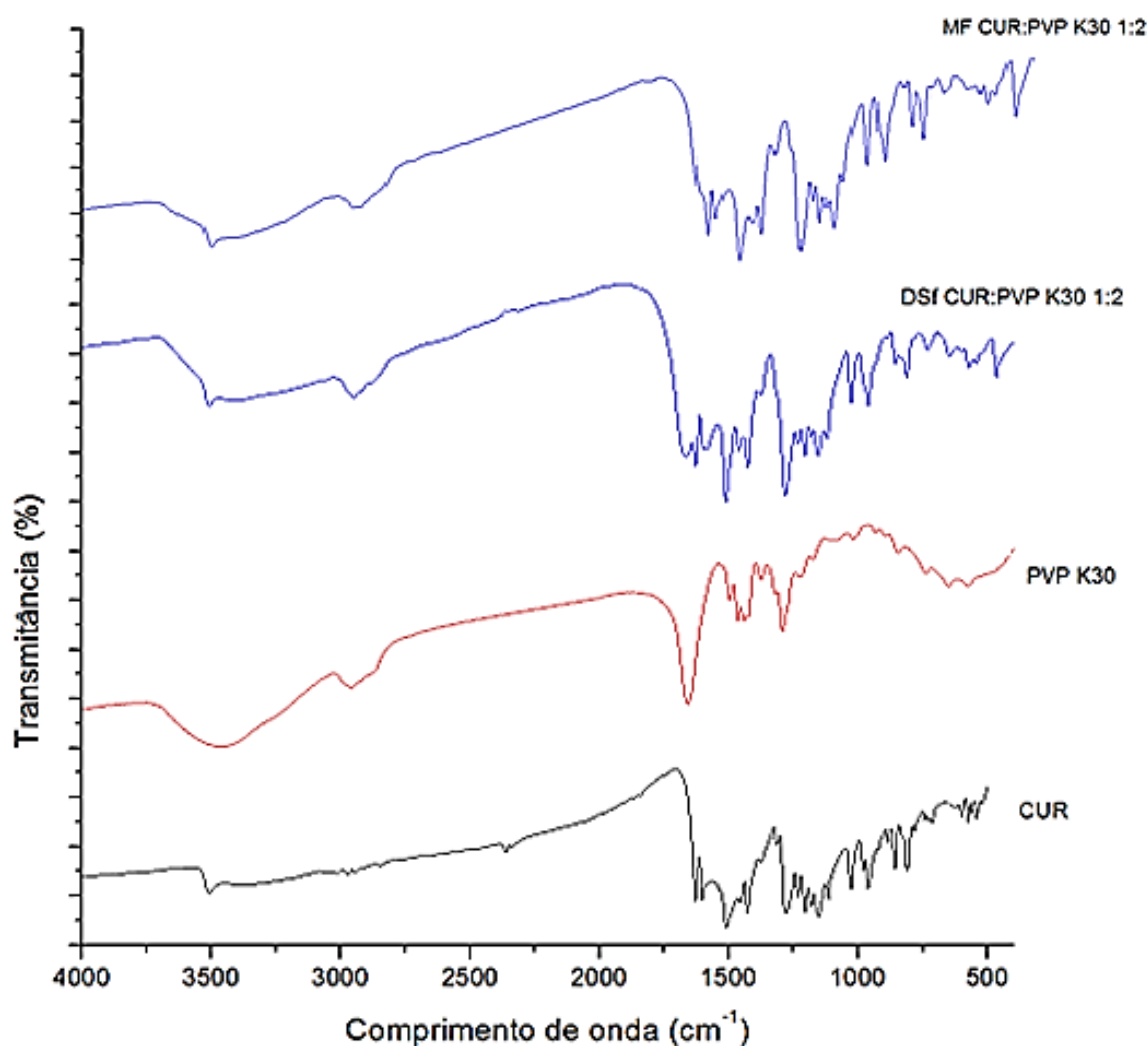
As análises por espectrofotometria de infravermelho com transformada de Fourier permitem a identificação de grupos funcionais presentes nos materiais. Cada grupo funcional em particular absorve em uma frequência característica de radiação no espectro do infravermelho. Deste modo, um gráfico de intensidade *versus* frequência de radiação, designado como espectro de infravermelho, permite caracterizar os grupos funcionais de um dado material (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000).

A análise FTIR foi realizada para DSf CUR:PVP K30 1:2 e MF CUR:PVP K30 1:2 juntamente com a CUR e a PVP K30 (Figura 11). A espectroscopia de infravermelho foi realizada para elucidar ainda mais a interação da CUR com PVP K30 nas dispersões sólidas ou misturas físicas.

No espectro da CUR aparece um estiramento em 3434 cm^{-1} , referente ao OH fenólico, em 2853 cm^{-1} , referente à ligação CH; em 1627 cm^{-1} , referente à ligação C=O da cetona conjugada; em 1456 cm^{-1} , referente à ligação CH_2 ; em 1429 cm^{-1} aparece o estiramento da ligação C=C do anel aromático e alifático; em 1384 cm^{-1} , referente à ligação CH_3 e em 1026 cm^{-1} observou-se o estiramento da ligação C-O-C do éter. Este resultado para FTIR da CUR está em acordo com os resultados descritos por Darandale e Vavia (2012), Gangwar et al. (2012) e Li et al. (2015).

No espectro da PVP observa-se a banda em 3500 cm^{-1} , característicos da ligação N-H do grupamento amina proveniente da PVP K30, a qual se mantém na DSf CUR:PVP 1:2 e na MF CUR:PVP 1:2, porém intensidade reduzida, muito provavelmente, devido sua mistura com a CUR, conforme descritos por Lima (2009) e Pavia, Lampman e Kriz (2010).

Figura 11 – Espectros de FTIR das amostras de CUR, PVP K30, DSf CUR:PVP K30 1:2 e MF CUR:PVP K30 1:2



Fonte: Elaboração própria.

O espectro de IR da MF mostrou claramente as bandas de absorção ilustrando a presença de PVP e CUR. Nas DS as bandas de absorção características da CUR e PVP K30 permaneceram praticamente inalteradas evidenciando a ausência de interação química entre estes compostos após o processamento para obtenção das DS. A menor intensidade dos picos está relacionada à taxa de carregamento do fármaco nas MF e DS.

Como a PVP K30 é altamente hidrofílica, é possível que haja a presença de moléculas de água, como observado em seu espectro, onde nota-se uma ampla banda acima de 3000 cm⁻¹ confirmando a perda de massa observada na curva termoanalítica, semelhante ao observado por Van Drooge et al. (2006) e Sethia e Squillante (2004), revelando, as bandas na faixa entre 2850-1700 cm⁻¹

correspondentes as estiramentos das ligações C-H dos grupos metileno e C=O da carbonila que compõe o anel pirrólico.

O espectro da DS e da MF apresentou-se semelhante aos espectros de cada composto não processado e os picos de absorção foram praticamente iguais ao dos constituintes, indicando que os constituintes da DS mantiveram-se inalterados, ou seja, não ocorreu interação química entre eles. Isso indica a formação das dispersões sólidas, pois o fármaco está simplesmente distribuído nos demais constituintes da formulação.

Os resultados apresentados na Figura 12 sugerem que os espectros das dispersões sólidas se manifestam como uma somatória dos espectros do fármaco e do polímero, indicando que não houve interação significativa entre a CUR e a PVP K30.

4.12 Conclusão

O emprego da tecnologia das dispersões sólidas com o carreador PVP K30 melhorou a solubilidade da CUR.

A DS com CUR e PVP K30 foram preparadas por co-precipitação e fusão por micro-ondas, sendo este segundo método o mais eficaz e de melhor resultado para o aumento da solubilidade em água da CUR.

O equilíbrio da solubilidade em água da CUR apresentou melhores resultados para a DSf: PVP K30 na proporção de 1:2 (m/m) pela técnica de fusão por irradiação no micro-ondas.

A análise dos resultados de MEV, DSC, DR-X revelou mudanças no estado sólido da CUR, bem como a diminuição de tamanho de suas partículas, justificando a formação de uma fase amorfa de alta energia e o aumento da solubilidade aquosa. Os resultados de DR-X sugerem ausência de complexação entre a CUR e o PVP K30.

A técnica de FTIR indicou ausência de interação química entre estes compostos após o processamento para obtenção das DS e MF.

As DS de CUR desenvolvida pela técnica de fusão na proporção 1:2 foram as otimizadas para o futuro desenvolvimento das nanopartículas.

4.12 Referências

- ARYA, P.; PATHAK, K. Assessing the viability of microsponges as gastro retentive drug delivery system of curcumin: optimization and pharmacokinetics. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 460, n. 1-2, p. 1-12, 2014.
- BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 6, p. 4567-4598, 2011.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n. 899, de 02 de junho de 2003. Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 jun. 2003.
- CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.
- CORTI, G. et al. Physicochemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 480-486, 2007.
- DARANDALE, S. S.; VAVIA, P. R. Cyclodextrin-based nanosponges of curcumin: formulation and physicochemical characterization. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, Dordrecht, v. 75, n. 3, p. 315-322, 2012.
- DEDAVID, B. A.; GOMER, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.
- GANGWAR, R. K. et al. Conjugation of curcumin with PVP capped gold nanoparticles for improving bioavailability. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 32, n. 8, p. 2659-2663, 2012.
- KAEWNOPPARAT, N. et al. Increased Solubility, Dissolution and Physicochemical Studies of Curcumin-Polyvinylpyrrolidone K-30 Solid Dispersions. **Engineering and Technology**, [s.l.], v. 31, p. 225-230, 2009.
- LI, J. et al. Curcumin-Eudragit® E PO solid dispersion: a simple and potent method to solve the problems of curcumin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 94, p. 322-332, 2015.
- LIMA, A. C. **Preparação de dispersões sólidas de praziquantel com polivinilpirrolidona pelo processo do fluido supercrítico**. 2009. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.
- PARADKAR, A. et al. Characterization of curcumin–PVP solid dispersion obtained by spray drying. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 271, n. 1-2, p. 281-286, 2004.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução a espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SETHIA, S., SQUILLANTE, E. Solid dispersion of carbamazepine in pvpk30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 272, n.1-2, p. 1-10, 2004.

VAN DROOGE, D. J. et al. Characterizations of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersion at nanometer scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 310, n. 1-2, p. 220-229, 2006.

ZHANG, X. et al. Physical characterization of lansoprazole/PVP solid dispersion prepared by fluid-bed coating technique. **Powder Technology**, Lausanne, v. 182, n. 3, p. 480-485, 2008.

CAPÍTULO III

5 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS DE CURCUMINA

5.1 Resumo

A *curcumina* (CUR) é um polifenol amarelo extraído do rizoma da planta *Curcuma longa* popularmente conhecida como açafrão, que apresenta diversas atividades farmacológicas. Contudo, sua aplicação terapêutica é limitada devido a sua baixa solubilidade aquosa que conduzem à reduzida biodisponibilidade deste fármaco. Para contornar tais limitações, uma alternativa é a incorporação da CUR em sistemas de liberação, como as nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), que são muito empregadas, principalmente, para melhorar a estabilidade, diminuir a toxicidade dos fármacos no organismo, além de melhorar o problema da baixa solubilidade em água. Um total de 9 (nove) formulações foram acompanhadas durante 60 dias monitorando-se a estabilidade em temperatura ambiente (25°C) e refrigeração (9°C), sendo avaliadas quanto ao volume hidrodinâmico, índice de polidispersão, potencial zeta e pH. As NLS (softisan 100 1%, lecitina de soja 0,5%, glicerol 12,6% e tween 80 0,5%) e span 80 0,2% ou 0,3% (B2 e C2 respectivamente) foram adicionadas de CUR (200 µg. mL⁻¹) na forma livre (B2-CUR e C2-CUR) e DS-CUR (B2-DSf CUR e C2-DSf CUR), foram avaliadas durante 30 dias e caracterizadas quanto suas propriedades físico-químicas (diâmetro, índice de polidispersão, potencial zeta e pH). A eficiência de incorporação de CUR destas formulações foram avaliadas nos tempos zero, 7 e 15 dias. As NLS foram avaliadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e perfil de liberação. As análises realizadas demonstraram que as formulações incorporadas com CUR e DS-CUR mantiveram-se termodinamicamente estáveis, apresentando um diâmetro hidrodinâmico compreendido entre 100 nm e 150 nm, um índice de polidispersão médio de 0,3 e potencial zeta de aproximadamente -28 mV. A eficiência de incorporação para as NLS incorporadas com DS-CUR foi de aproximadamente 90%, e para CUR livre foi de 82%. O teste de perfil de liberação apresentou um comportamento de liberação controlada.

Palavras-chave: Nanopartículas lipídicas sólidas. Dispersão sólida. Curcumina.

5.2 Abstract

Curcumin (CUR) is a yellowish polyphenol, extracted from the *Curcuma longa*'s rhizome. This plant is known as saffron and its compounds have diverse pharmacological activities. However, its therapeutic use is restricted due to low water solubility which leads to a reduced bioavailability. An option to avoid this limitation is to incorporate CUR into delivery systems such as solid lipid nanoparticles (SLN) and these systems are often used to improve stability, reduce the toxicity of drugs and minimize the water solubility issue. Nine formulations were studied over a period of 60 days and, during this time, the stability at room temperature (25°C) and at 9°C was measured by analyzing the hydrodynamic volume, the polydispersity index, the zeta potential and the pH. The SLN (Softisan 100 1%, soy lecithin 0,5%, glycerol 12,6% and Tween 80 0,5%) and Span 80 0,2% or 0,3% (B2 and C2 respectively) had free CUR added [200 µg. mL⁻¹](B2-CUR and C2-CUR) and DS-CUR (B2-DSf CUR and C2-DSf CUR), were analyzed during 30 days and categorized according to their physicochemical properties (diameter, polydispersity index, zeta potential and pH). The incorporation efficiency of CUR on those formulations was evaluated on days 0, 7 and 15. The SLN were analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Differential Scanning Calorimetry (DSC), Electron Microscopy Transmission (EMT) and release pattern. The results showed that the incorporated formulations with CUR and DS-CUR kept thermodynamically stable presenting an hydrodynamic diameter between 100nm and 150nm; the average polydispersity index was 0,3 and the zeta potential close to -28mV. The incorporation efficiency to the SLN incorporated into the DS-CUR was approximately 90%. To the free CUR, the result was 82%. The release pattern test showed a controlled release behavior.

Keywords: Solid lipid nanoparticles. Solid dispersion. Curcumin.

5.3 Introdução

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) são muito empregadas, como sistemas de liberação prolongada de fármaco, visando, principalmente, melhorar a estabilidade de fármacos e diminuir a sua toxicidade no organismo. Apresentam como vantagens: proteção das substâncias ativas contra degradações químicas, efeitos colaterais minimizados, melhores propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas e permitem modular a velocidade de liberação do fármaco.

As NLS são compostas por lipídios biodegradáveis e biocompatíveis, sólidos a temperatura ambiente; estas características originam uma partícula sólida e, este fato contribui para melhorar a estabilidade física e química do fármaco encapsulado. Além dos lipídios, as NLS são compostas por tensoativo e água. A combinação de diferentes tensoativos tende a prevenir, com maior eficiência, a aglomeração entre as partículas. Ácidos graxos com cadeias curtas geralmente produzem partículas com menor tamanho e o aumento do conteúdo lipídico resulta em partículas maiores com aumento da polidispersidade.

A curcumina (CUR) é um composto derivado de polifenóis, possui diversos efeitos farmacológicos, incluindo atividades anti-inflamatória, antioxidante, anti-proliferativo e anti-angiogénico. No entanto, apesar das atividades promissoras de CUR, a sua baixa solubilidade e fraca estabilidade em sistemas aquosos, têm limitado a sua aplicação. Vários esforços para resolver estas limitações da CUR têm sido desenvolvidos, incluindo a complexação com ciclodextrina, a dispersão sólida, nanopartículas entre outros.

Neste capítulo será abordada a preparação e avaliação de NLS incorporadas com CUR, na sua forma livre e em dispersão sólida (DS), devido ser uma alternativa promissora para o aumento da biodisponibilidade da CUR.

5.4 Objetivos

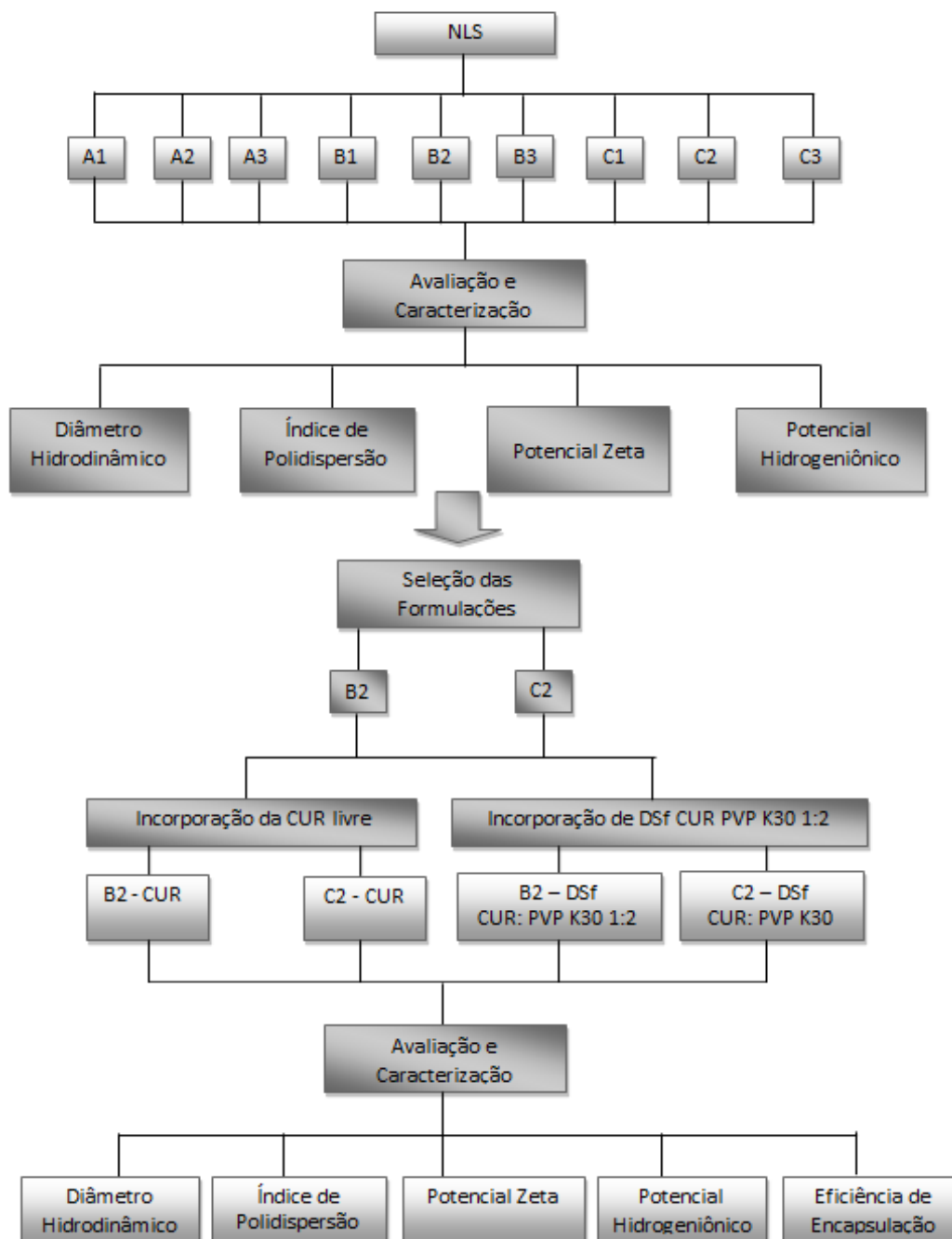
O objetivo do presente estudo foi desenvolver formulações de nanopartículas lipídicas sólidas contendo CUR na forma livre e na forma de DS (CUR:PVP K30 1:2 m;m). Avaliar as formulações quanto à eficiência de incorporação, volume hidrodinâmico, potencial zeta, índice de polidispersão e alterações do potencial hidrogeniônico (pH). Acompanhar a estabilidade físico-química das formulações

durante 60 dias para formulações sem CUR e 30 dias para formulações com CUR. Avaliar aspectos morfológicos e possíveis interações entre a CUR e componentes da formulação.

5.5 Desenho experimental

Para o desenvolvimento deste capítulo foram realizadas etapas de preparação e caracterização das NLS (Figura 12) incorporadas com CUR na forma não processadas e incorporadas com Dispersão sólida obtida por fusão (DSf) CUR:PVP K30 1:2. As análises de caracterização foram baseadas na identificação de propriedades físicas e físico-químicas.

Figura 12 – Delineamento experimental para o desenvolvimento e avaliação de Nanopartículas Lipídicas Sólidas de Curcumina e de Dispersão Sólida obtida na proporção de 1:2 (m/m).



CUR – curcumina, PVP – polivinilpirrolidona, NLS – nanopartículas lipídicas sólidas, DSf – dispersão sólida obtida por fusão.

Fonte: elaboração própria.

5.6 Material e método

Curcumina 99,8% (Sigma Aldrich; Co, Saint Louis, USA). Polivinilpirrolidona K30 (PVP – K30) (Sigma Aldrich; Co, Saint Louis, USA), Softisan100™ (Sasol

Olefins & Surfactants GmbH). A dispersão sólida de CUR: PVP K30 1:2 foi obtida conforme descrito no Capítulo II. As demais matérias primas utilizadas eram de grau de pureza para uso farmacêutico ou analítico.

5.6.1 Curva analítica da Curcumina

Conforme descrito no Capítulo II (página 53), a construção da curva analítica foi realizada em soluções etanólicas 95% (v/v) nas concentrações de 0,5 µg.mL⁻¹ a 5,0 µg.mL⁻¹ em triplicata. As leituras foram realizadas por espectroscopia UV a 427nm.

A média das absorbâncias para as diferentes concentrações, o desvio padrão e o coeficiente de variação foram determinados matematicamente. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram determinados através da curva analítica. Foi utilizado solução etanólica como branco para zerar o equipamento.

A regressão linear foi determinada pelo método dos mínimos quadrados, bem como o seu correspondente coeficiente de correlação linear (r) usando software excel 15.0.4420.1017 – Microsoft.

5.6.2 Preparação das nanopartículas lipídicas sólidas

Nove NLS foram preparadas, com diferentes composições em suas formulações, conforme Tabela 3.

Todas foram preparadas pelo método de microemulsão à quente (GASCO, 1993). Resumidamente, os reagentes de cada fase foram pesados em balança analítica, a fase oleosa e a fase aquosa foram aquecidas separadamente em banho de água circulante, termostatizado (Brookfield – TC 550, Massachusetts, USA), até a temperatura de 75°C. Em seguida a fase aquosa foi vertida lentamente sobre a fase oleosa, sob homogeneização a alta velocidade (12000 rpm) em um homogeneizador UltraTurrax (modelo T25D, IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Alemanha), durante 5 minutos para a formação de nanoestruturas por cisalhamento, promovendo a formação de um sistema microemulsionado. Em seguida, foi adicionada água refrigerada para uma temperatura de 2 – 3°C, para solidificação da fase lipídica da formulação. A agitação foi mantida por mais 5 minutos em

UltraTurrax a 12000 rpm, estimulando a quebra das micropartículas por choque térmico e cisalhamento e formação de nanopartículas lipídicas.

Tabela 3 – Composição das formulações de NLS A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3 e seus respectivos valores de EHL

Formulações	Fase Oleosa			Fase Aquosa			
	Softisan 100 (g)	Lecitina de Soja (g)	Span 80 (g)	Glicerol (g)	Tween 80 (g)	Água (mL)	EHL
A1	0,5	0,125	0,05	6,3	0,25	qsp 50	10,5
A2	0,5	0,25	0,05	6,3	0,25	qsp 50	9,04
A3	0,5	0,375	0,05	6,3	0,25	qsp 50	8,07
B1	0,5	0,125	0,1	6,3	0,25	qsp 50	9,86
B2	0,5	0,25	0,1	6,3	0,25	qsp 50	8,63
B3	0,5	0,375	0,1	6,3	0,25	qsp 50	9,43
C1	0,5	0,125	0,15	6,3	0,25	qsp 50	9,26
C2	0,5	0,25	0,15	6,3	0,25	qsp 50	8,33
C3	0,5	0,375	0,15	6,3	0,25	qsp 50	8,11

Fonte: elaboração própria.

5.7 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das NLS

As 9 formulações (A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3) foram analisadas quanto as seguintes propriedades: pH, o volume hidrodinâmico, a polidispersão e o potencial zeta em função do tempo (zero, 7, 15, 30 e 60 dias), armazenadas em refrigeração (9°C) e em temperatura ambiente (25°C).

5.7.1 Avaliação de pH

Os valores de pH foram avaliados utilizando o medidor de pH/Ions (TECNAL, TEC-5, Piracicaba, Brasil) devidamente calibrado. Este protocolo de análise foi adotado para verificar variações de pH ao longo do processo de estocagem, que pudessem causar prejuízos às formulações. O pH das formulações (A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3) foi monitorado em função de diferentes tempos (0, 7, 15, 30 e 60 dias) e as medidas foram realizadas em triplicata. Os dados foram expressos como a média $\pm$ desvio padrão. O teste foi realizado com um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

5.7.2 Volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta

O diâmetro, a polidispersão e o potencial zeta foram determinados usando um analisador de partículas (ZetaPALS, modelo NanoBrook 90PlusPALS, Brookhaven Instruments, Holtsville NY, E.U.A). O volume hidrodinâmico médio de partícula e a distribuição de tamanhos (índice de polidispersão) foram determinados por espectroscopia de espalhamento de luz.

Para a determinação do diâmetro, polidispersidade e do potencial zeta, as partículas foram diluídas em água ultrapura (1:1000), e homogeneizadas. As medidas foram realizadas a um ângulo fixo de 90° e 25°C. Os testes foram realizados em triplicata. As comparações estatísticas entre as diferentes formulações foram realizadas utilizando-se a ferramenta ANOVA com pós-teste de Tukey e intervalo de confiança de 95% e significância com $p < 0,05$.

5.8 Preparação das nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcumina livre e dispersão sólida obtida por fusão CUR:PVP K30 1:2

Na preparação das NLS, a incorporação do equivalente a $200\mu\text{g.mL}^{-1}$ CUR livre ou de DSf CUR:PVP K30 1:2 foi feita na fase lipídica, utilizando a mesma abordagem experimental descrita no item 5.6.2.

5.9 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcumina livre e DSf CUR:PVP K30 1:2

Após a avaliação dos resultados das 9 formulações, foram selecionadas para incorporação de CUR livre e de DSf as formulações B2 e C2. Estas formulações foram analisadas em função do tempo (zero, 7, 15 e 30 dias) quanto as propriedades de pH, volume hidrodinâmico, polidispersão e potencial zeta. A eficiência de incorporação das formulações otimizadas foram avaliadas em função do tempo (zero, 7 e 15 dias). As NLS selecionadas foram ainda avaliadas quanto aos aspectos morfológicos (microscopia eletrônica de transmissão – MET), interação entre os constituintes da formulação (calorimetria exploratória diferencial - DSC e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – FTIR) e perfil de liberação de CUR.

5.9.1 Avaliação de pH

Os valores de pH foram avaliadas utilizando o medidor de pH/Ions (TECNAL, TEC-5, Piracicaba, Brasil) devidamente calibrado. Este protocolo de análise foi adotado para verificar variações de pH ao longo do processo de estocagem, que pudesse causar prejuízos às formulações. O pH das formulações B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 foram acompanhadas em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias).

5.9.2 Volume hidrodinâmico e índice de polidispersão e potencial zeta

O diâmetro, a polidispersão e o potencial zeta foram determinados usando um analisador de partículas (ZetaPALS, modelo NanoBrook 90PlusPALS, Brookhaven Instruments, Holtsville NY, E.U.A), conforme descrito no item 5.7.2.

As formulações B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 foram acompanhadas em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias) (Teste *T de Student* com $p > 0,05$).

5.9.3 Eficiência de incorporação

A eficiência de incorporação das NLS com CUR e DSf CUR:PVP K30 1:2 foi determinada pela medida da concentração de fármaco livre no meio de dispersão. Quantidade suficiente da formulação foi centrifugada (Rotor LS3/Combate, CELM, São Paulo, Brasil) durante 30 minutos a 3.500 rpm. A massa de CUR no sobrenadante foi quantificada usando método espectrofotométrico (UV 427 nm). A eficiência de incorporação foi calculada usando a equação 1 nas formulações B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2. O teste foi realizado com um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

$$EE (\%) = \left(\frac{[curcumina]_{real} - [curcumina]_{não\ encapsulada}}{[curcumina]_{real}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

5.9.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Forrier

Os espectros de FTIR das amostras foram obtidos através do espectrofotômetro (IRAffinity 1S – Shimadzu Corp. Japão). As amostras foram secadas durante 24 horas em estufa de ar circulante. A massa aproximadamente 2 mg da amostra foi misturada a 300 mg de KBr para formação da pastilha. A faixa de escaneamento foi entre 400 e 4000 cm^{-1} . Os espectros foram normalizados e as bandas de vibração foram associadas aos principais grupos químicos.

5.9.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As medidas de DSC foram realizadas utilizando um Calorímetro Diferencial de Varredura (*Thermal Analyzer TA 60W* – Shimadzu DSC-60, Kyoto, Japan) equipado com controlador de fluxo modelo FC 60A, *software* e interface para controle e aquisição de dados e sistema de selagem de cadinho. Os termogramas das amostras foram obtidos utilizando cadinho de alumínio hermeticamente fechado, o teste foi realizado sob atmosfera de dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min^{-1} na faixa de aquecimento de 10 - 200°C, sob uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹. A massa de amostra empregada para análise das DS, MF, polímeros e CUR foi de aproximadamente 2 mg.

5.9.6 Microscopia eletrônica de transmissão

As amostras foram preparadas em grades de cobre – Lacey Carbon Type A 300 mesh copper grid (TedPella, USA), as quais foram submetidas ao procedimento de Glow Discharge em um equipamento easiGlow (Pelco, USA), com os seguintes parâmetros: corrente de 15 mA; carga negativa; 25 segundos de descarga.

O congelamento em gelo amorfo (crio preparação) foi feito com a utilização de um equipamento Vitrobot Mark IV (FEI, Holanda) em temperatura (22 °C) e umidade (100%) controladas. O preparo das amostras seguiu os seguintes parâmetros: blot time 2,5 segundos; blot force -5, blot wait 20 segundos com um único blot. Então, 3 μL das amostras foram aplicadas nas grades e imersas em etano líquido. Após a imersão, a grade foi mantida em nitrogênio líquido até o momento da análise no microscópio e mantida a -173 °C durante toda a análise no microscópio.

As análises foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão modelo JEM-1400 PLUS (JEOL, Japão), filamento de LaB6, operando a 120kV; o microscópio é equipado com uma câmera CCD Gatan MultiScan 794 (1k x 1k pixels) para a aquisição digital de imagens.

A aquisição das imagens e medidas realizadas foram feitas com o software Digital Micrograph (Gatan Inc., USA); as imagens obtidas não foram submetidas a procedimentos de pós processamento.

5.9.7 Perfil de liberação e dissolução de CUR

O estudo do perfil de liberação da CUR foi realizado com as formulações B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2. Para a avaliação do perfil de liberação, 2 mL das NLS foram cuidadosamente medido com pipeta semi-automática e depositado em placas para cultura de células com fundo chato, com dimensão de 35 mm de diâmetro e 17,5 mm de profundidade. Em cada poço da placa contendo a amostra foi adicionado 5,0 mL de água purificada. O sistema foi mantido em agitador orbital (Tecnal, TE-4200, Piracicaba, BR), na temperatura de 37°C. a 50 rpm. As condições *sink* foram estabelecidas com base no estudo de equilíbrio de solubilidade (Capítulo II) e mantidas durante o experimento. Uma alíquota de 1 mL, do sobrenadante, foi retirada nos intervalos de tempo de 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, 120, 150 e 180 min. O volume do meio foi mantido constante pela adição de 1 mL de água purificada pré-aquecida a 37°C. As alíquotas foram diluídas em etanol 70% e a absorbância da CUR determinada por espectroscopia UV ($\lambda = 427 \text{ nm}$). O cálculo da concentração de CUR foi realizado utilizando a equação da reta obtida da curva analítica (Capítulo II). O experimento foi conduzido em triplicata.

5.10 Resultados e discussão

Após a avaliação dos resultados das 9 (nove) formulações, as formulações otimizadas para incorporação da CUR livre e DSf CUR:PVP K30 1:2, foram a B2 e C2, devido a estabilidade no diâmetro, valores de polidispersão de aproximadamente 0,3 e valores de potencial zeta maiores que -30 mV, durante o período de acompanhamento.

Estas formulações foram analisadas em função do tempo (zero, 7,15 e 30 dias) quanto as propriedades de pH, volume hidrodinâmico, polidispersão e potencial zeta. A eficiência de incorporação das formulações otimizadas foram avaliadas em função do tempo (zero, 7 e 15 dias) de forma a avaliar a estabilidade das mesmas.

As NLS selecionadas foram ainda avaliadas quanto aos aspectos morfológicos (MET), interação entre os constituintes da formulação (DSC e FTIR) e perfil de liberação de CUR.

5.10.1 Curva analítica de curcumina

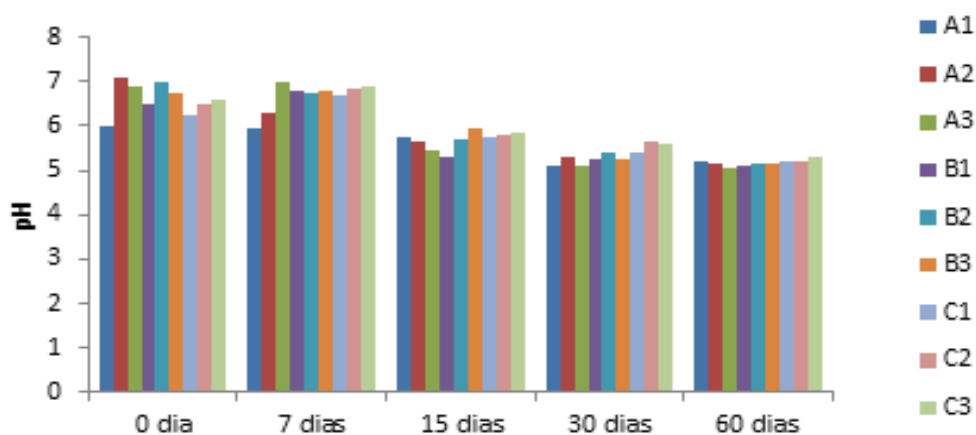
A curva analítica obtida por espectroscopia UV mostrou uma correlação linear entre a concentração do fármaco e a absorbância de CUR. O ajuste linear realizado aos resultados das leituras de absorbância a 427 nm das várias concentrações da CUR produziu uma curva analítica com um coeficiente de correlação linear igual a 0,999, o que foi indicativo de uma linearidade do método utilizado na faixa de concentração entre $0,5 \text{ g/mL}^{-1}$ e $5 \text{ } \mu\text{g/mL}^{-1}$, conforme descrito no Capítulo II, página 55. A equação da reta obtida após plotagem do gráfico foi $y = 0,1685x - 0,0308$. Os valores obtidos para o coeficiente de detecção e quantificação foram respectivamente, $0,043238 \text{ } \mu\text{g/mL}$ e $0,144128 \text{ } \mu\text{g/mL}$.

5.11 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das NLS

5.11.1 Medida do pH

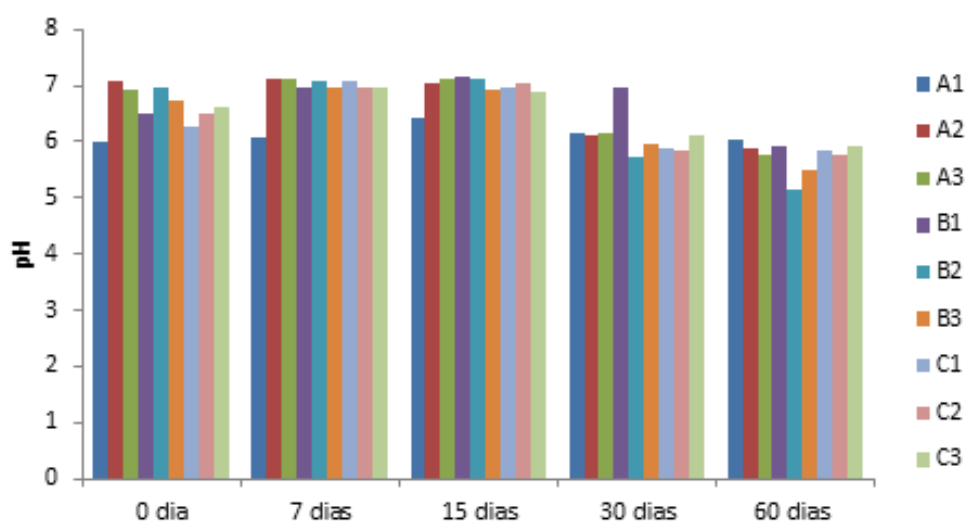
O pH foi um dos parâmetros investigados para avaliar a estabilidade das formulações durante o período de armazenamento. As Figuras 13 e 14 apresentam os valores de pH encontrados, ao longo dos dias e sob temperatura de armazenamento a 9°C e a 25°C .

Figura 13 – Perfil do pH das formulações de A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3 em função do tempo sob temperatura de armazenamento a 9°C



Fonte: elaboração própria.

Figura 14 – Perfil do pH das formulações de A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 E C3 em função do tempo sob temperatura de armazenamento a 25°C



Fonte: elaboração própria.

Alterações nos valores do pH podem ser indicativas de degradação dos componentes da formulação (HEURTAULT et al., 2003).

Pode-se observar que ocorreram variações no pH das formulações ao longo de 60 dias, indiferente da temperatura de armazenamento, apresentando uma tendência de redução. Alterações nos valores de pH de suspensões de NLS, podem interferir na matriz lipídica das partículas, ocasionando fenômenos como a cristalização ou recristalização, levando a liberação dos ativos (CHOI; ADITYA; KO, 2014).

A diminuição do valor de pH pode levar a um aumento da protonação dos grupos funcionais à superfície da partícula. Também a diminuição do pH pode levar a um aumento da concentração de eletrólitos, que pode causar uma compressão na camada de difusão das partículas, assim como uma repulsão eletrostática e consequentemente a desestabilização das NLS (MEHNERT; MADER, 2001).

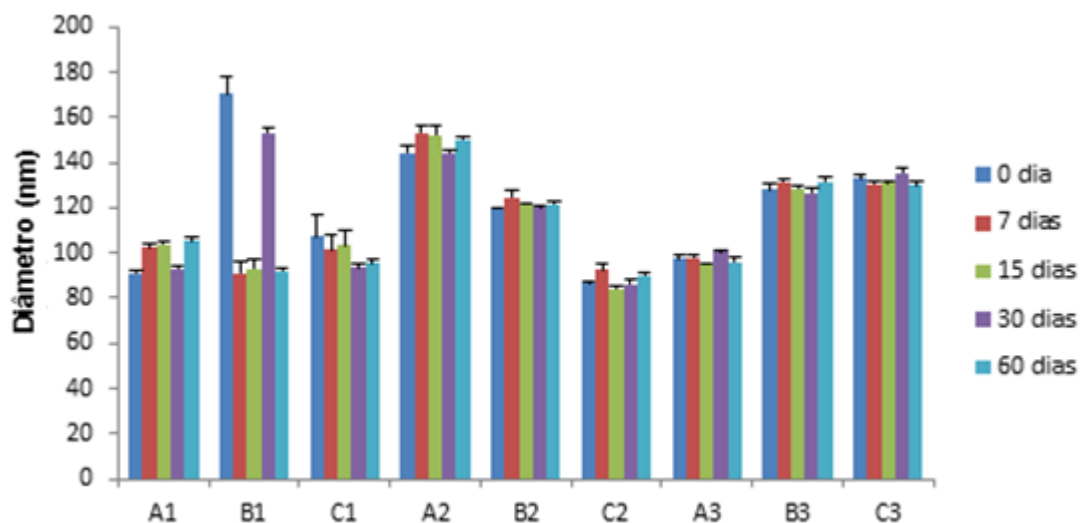
Com base no estudo de Schwarz e Mehnert (1999), a redução do valor do pH pode levar a um aumento da protonação dos grupos funcionais à superfície da partícula. Também a diminuição do pH pode estar relacionado a um aumento da concentração de eletrólitos, que pode causar uma compressão na camada de difusão das partículas, assim como uma repulsão eletrostática e consequentemente desestabilização das NLS.

5.11.1 Volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta

O diâmetro e a polidispersão de NLS sólidas podem ser afetados por inúmeros parâmetros tais como: a composição da formulação (tipo de lipídio, tipo de ativo, tipo de surfactante entre outros), o método e as condições de preparo (temperatura, agitação, pressão entre outros) e armazenamento (MARCATO, 2009).

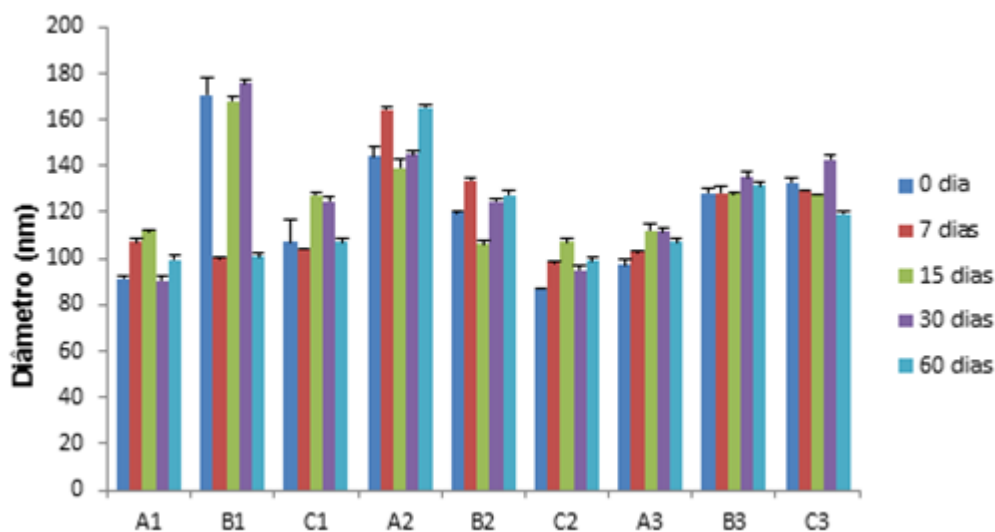
As Figuras 15 e 16 apresentam o volume hidrodinâmico em nm das NLS em função de diferentes tempos (0, 7, 15, 30 e 60 dias) e em temperatura refrigerada a 9° C e em ambiente 25°C. Observa-se que todas as formulações apresentaram no tempo inicial um tamanho médio abaixo de 150 nm. As NLS A1, A2, A3, B2, B3, C1, C2 e C3, armazenadas a 9°C e a 25°C, apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) em função do tempo zero, 7, 15, 30 e 60 dias.

Figura 15 – Variação do volume hidrodinâmico das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 9°C



Fonte: elaboração própria.

Figura 16 – Variação do volume hidrodinâmico das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 25°C.



Fonte: elaboração própria.

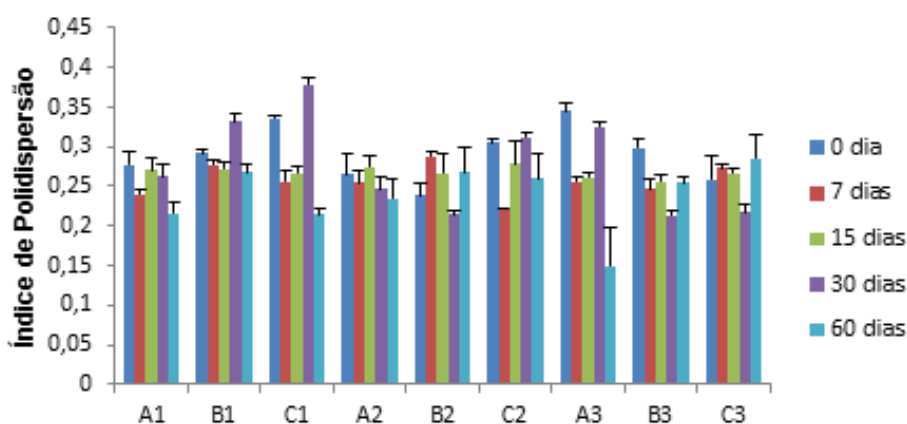
Após a preparação, as suspensões coloidais normalmente não apresentam tendência à separação de fases, pois o processo de sedimentação é lento para partículas submicrométricas e minimizado pelo movimento browniano. No entanto, em períodos de armazenamento prolongados pode ocorrer a aglomeração das partículas e, conseqüentemente, a sedimentação tornando a aplicabilidade das nanopartículas dispersas em meio aquoso limitada, devido aos problemas de baixa

estabilidade físico-química (KULKAMP et al., 2009; KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Outro parâmetro avaliado foi o índice de polidispersão em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) e temperatura (9°C e 25°C). Os resultados estão demonstrados nas Figuras 20 e 21, as quais indicam a distribuição de tamanho das nanopartículas em função da distribuição de tamanho média, ou seja, um baixo índice de polidispersão indica que as partículas estão em uma estreita faixa de tamanho.

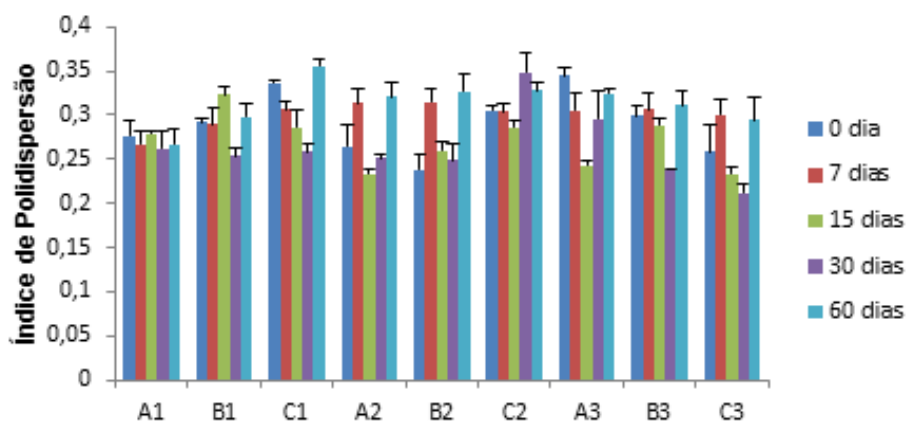
As NLS apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação à temperatura de armazenamento, em função do tempo de 60 dias, indicando que a temperatura interfere no índice de polidispersão.

Figura 17 – Índice de polidispersidade das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 9°C



Fonte: elaboração própria.

Figura 18 – Índice de polidispersidade das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 25°C



Fonte: elaboração própria.

Observa-se que ocorreram variações na polidispersão em função do tempo, estas variações podem estar relacionadas a reorganização na distribuição de tamanho das partículas. O índice de polidispersidade das formulações com 30 dias de acompanhamento foram maiores que 0,3 indicando que o sistema possui dispersão heterogênea, pois somente resultados menores que 0,25 podem ser considerados sistema homogêneos, indicativos de boa estabilidade (MEHNERT; MADER, 2001; CHO et al., 2013)

A distribuição do tamanho das nanopartículas caracteriza a tendência à sedimentação e à agregação destas, permitindo desta forma avaliar a estabilidade do sistema ao longo do tempo (SCHAFFAZICK et al., 2003; XU, 2008).

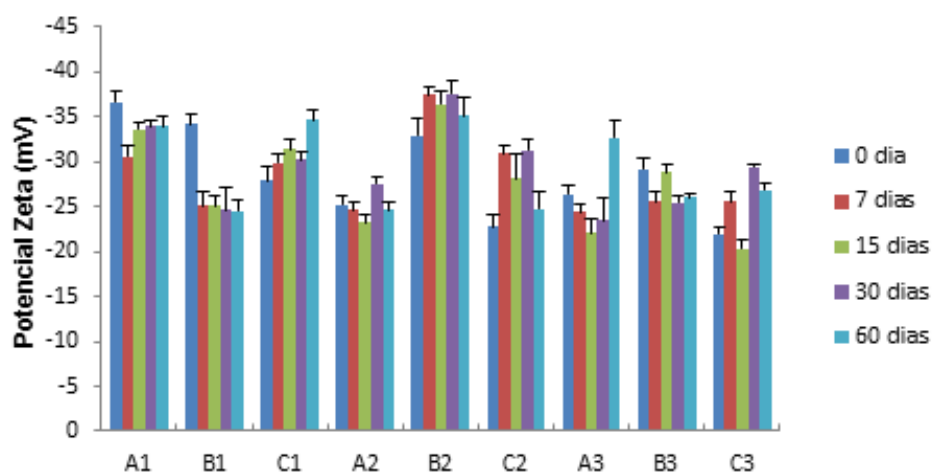
Segundo Mohanraj e Chen (2006) o diâmetro da partícula e o índice de polidispersão, são de extrema importância para a nanopartícula, pois determinam a distribuição in vivo, destino biológico, a toxicidade e a capacidade de direcionamento das nanopartículas. Além disso, eles também podem influenciar a liberação do composto e a estabilidade das nanopartículas.

Outro parâmetro utilizado para acompanhar a estabilidade das NLS, foi o potencial zeta. Ele reflete a carga de superfície das nanopartículas, sendo influenciado pela composição da partícula, o meio dispersante, pH e a força iônica do meio (GREENWOOD, 2003).

Geralmente quanto maior o valor numérico (em módulo) do potencial zeta, maior será a estabilidade das suspensões coloidais, pois a força de repulsão de cargas entre as partículas é maior, evitando agregação. Nanopartículas com potencial zeta de aproximadamente (+/-) 30mV conferem uma boa estabilidade físico-química ao sistema coloidal, fazendo com que este resista mais facilmente à agregação (KULKAMP et al., 2009; KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; SCHAFFAZICK et al., 2003).

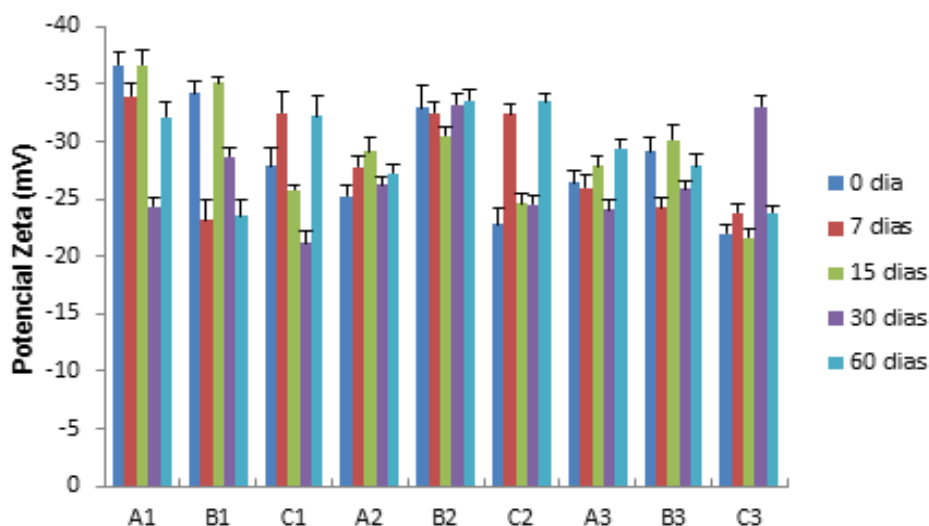
As Figuras 19 e 20 mostram os valores de potencial zeta para as NLS das formulações A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias), sob condições de armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e em refrigeração (9°C). Pode-se observar que todas as formulações apresentaram um valor médio a -28 mV durante o período de acompanhamento, independente da temperatura armazenamento, sendo um bom indicativo de estabilidade.

Figura 19 – Potencial Zeta (mV) das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 9°C



Fonte: elaboração própria.

Figura 20 – Potencial Zeta (mV) das NLS A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3 e C3 em função do tempo (0, 7, 15, 30 e 60 dias) sob temperatura de armazenamento a 25°C



Fonte: elaboração própria.

A importância em se determinar o potencial zeta reside na possibilidade de se poder prever a estabilidade coloidal das emulsões produzidas. A previsão da estabilidade coloidal depende da interação entre partículas em suspensão, e assim, o potencial zeta é uma tentativa para quantificar estas interações.

O potencial zeta é uma medida das forças repulsivas entre partículas e, uma vez que a maior parte dos sistemas coloidais aquosos é estabilizada por repulsão eletrostática, quanto maiores forem às forças repulsivas entre as partículas, menor será a probabilidade delas se aproximarem e formarem um agregado, pelo que mais

estável será o sistema coloidal (BUSZEWSKI; BOCIAN; DZIUBAKIEWICZ, 2010; SCHULTZ et al., 2008).

Embora tenham sido observadas variações nas características das nanopartículas ao longo do estudo da estabilidade físico-química, não se pode afirmar que a temperatura teve influência direta nas variações do potencial zeta das nanopartículas, pois as variações sofridas por estas se mostraram pouco significativas (intervalo de confiança de 95% e significância com $p < 0,05$) nas diferentes temperaturas de acondicionamento.

A partir dos parâmetros pré-estabelecidos, verificou-se que as nanopartículas apresentaram-se relativamente estáveis. No entanto, como se trata de uma suspensão coloidal de nanopartículas, que está mais propensa à agregação e sedimentação ao longo do tempo, se faz necessário a realização de um acompanhamento destes, e de outros parâmetros, por um período de tempo superior ao estudado.

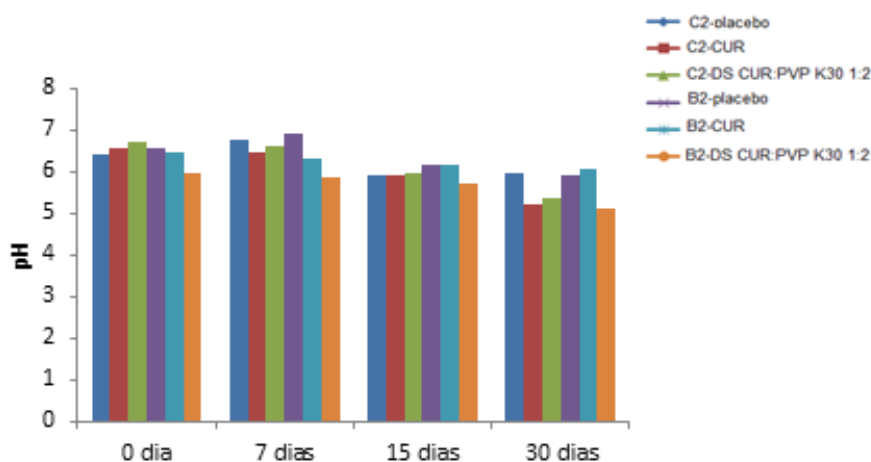
5.12 Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcumina livre e DSf CUR:PVP K30 1:2

Após a avaliação dos resultados das 9 (nove) formulações, as NLS otimizadas para incorporação da CUR livre e DSf CUR:PVP K30 1:2, foram a B2 e C2, devido a apresentar estabilidade no diâmetro, valores de polidispersão de aproximadamente 0,3 e valores de potencial zeta maiores que -30 mV, durante o período de acompanhamento. O local de armazenamento selecionado foi a 9°C, devido aos resultados para o teste de índice de polidispersão, durante o acompanhamento de 60 dias, serem significativamente ($p > 0,05$) melhores comparados aos resultados das NLS quando armazenadas em 25°C.

5.12.1 Medida do pH

A análises dos resultados apresentados na Figura 21 mostram os valores do pH, avaliados durante o período de 30 dias.

Figura 21 – Perfil do pH das formulações C2-placebo, C2-CUR, C2-DS-CUR:PVPK30 1:2, B2-placebo, B2-CUR, B2-DS-CUR:PVP K30 1:2



Fonte: elaboração própria.

Os resultados indicam uma redução no valor do pH durante o acompanhamento, isto pode estar relacionado com uma possível desestruturação do sistema.

Com base no monitoramento do pH das suspensões nanoparticuladas, em função do tempo, obtém-se informações importantes sobre a estabilidade destes sistemas (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Kuo e Chen (2007) observaram que redução nos valores de pH, indica que as propriedade eletrostáticas das NLS são mais fracas, o que leva a uma diminuição da estabilidade a longo prazo.

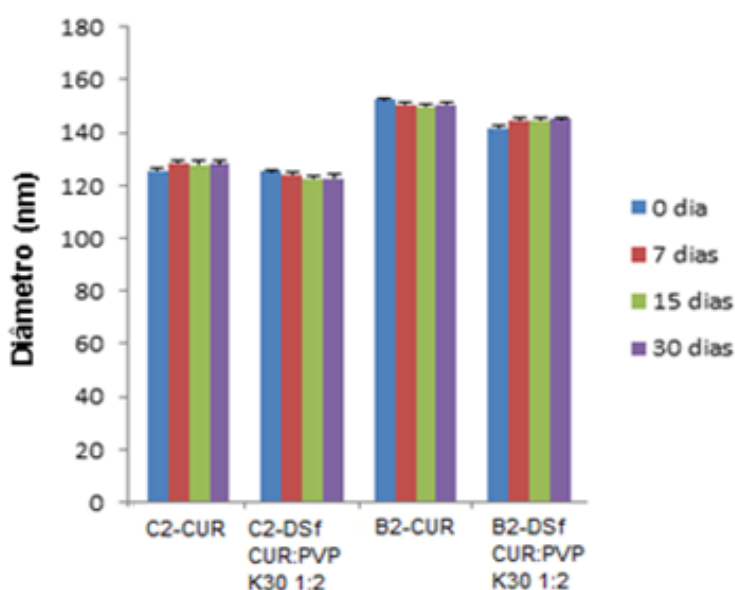
5.12.2 Volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta

Após a incorporação de CUR não processada e de DSf-CUR, foi realizado o acompanhamento durante 30 dias, do volume hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta. A temperatura de armazenamento foi controlada a 9°C, devido aos estudos anteriores demonstrarem que o índice de polidispersão apresentava significativa ($p > 0,05$) alteração quando as NLS são armazenadas em temperatura ambiente a 25°C.

As análises dos resultados apresentados na Figura 22 mostram que as NLS C2 apresentaram um tamanho médio de 125 nm, enquanto que as NLS B2, apresentaram um tamanho médio de 150 nm. Também não foram observadas

diferenças significativas no tamanho das partículas em função do período de armazenamento (Teste *T de Student* com $p > 0,05$). As NLS provenientes da formulação C2 apresentam em sua composição quantidades maiores de span 80 do que as NLS B2, isto pode estar relacionado com a redução do tamanho obtida pelas NLS C2.

Figura 22 – Tamanho hidrodinâmico das NLS de C2-CUR, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias)



Fonte: elaboração própria.

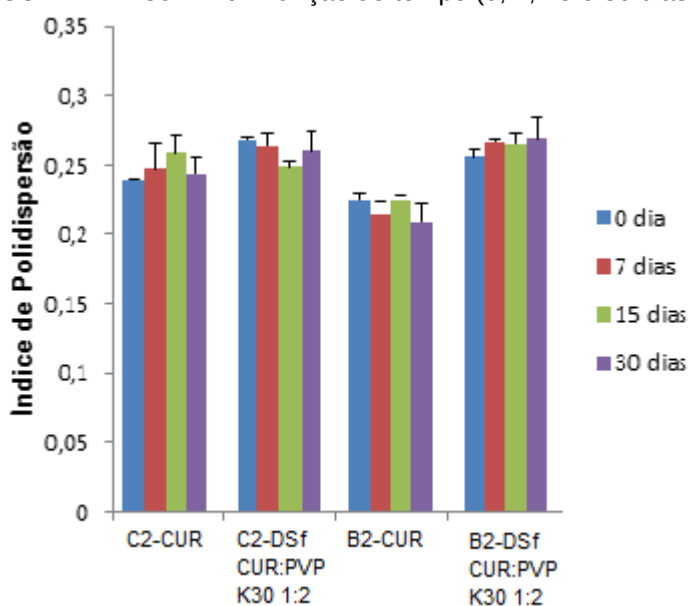
Reduzir o tamanho das partículas aumenta a superfície de contato com o solvente, aumentando a solubilidade. Mas, quando diluída em água na ausência de um estabilizador adequado, a superfície da nanopartícula fica propensa à aglomeração ou agregação, enquanto que um bom estabilizador poderia dispersar a partícula na interface com a água para impedir a agregação (GAO et al., 2011). O uso do tween 80 então é para evitar que as partículas de CUR se reagrem nas soluções aquosas.

As análises de índice de polidispersão apresentadas na Figura 23, mostram que as NLS incorporadas com DSf apresentaram uma polidispersão maior, quando comparadas as incorporadas com CUR livre. É possível observar que ocorreram variações na polidispersão das NLS em função do tempo, porém, estas variações podem estar relacionadas com falhas na técnica experimental ou uma possível reorganização do sistema. As NLS incorporadas com CUR não processada,

apresentaram um valor para polidispersão aceitável, sendo menor que 0,3 (CHO et al., 2013), enquanto que as NLS incorporadas com DSf, os valores obtidos foram maiores que o ideal.

As NLS B2-CUR no acompanhamento de 30 dias e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 com 15 dias, apresentaram alterações significativas (Teste *T de Student* com $p > 0,05$) quanto a polidispersidade, as demais NLS não apresentaram alterações significativas em função do tempo.

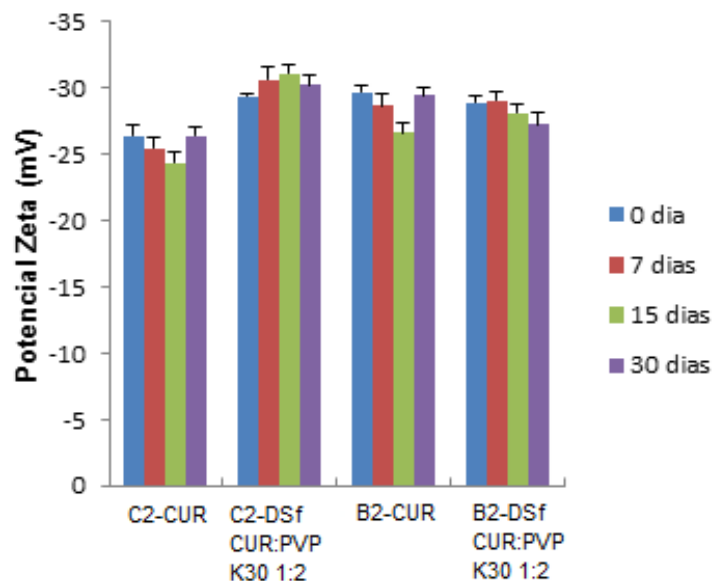
Figura 23 – Índice de Polidispersão das NLS de C2-CUR, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias)



Fonte: elaboração do autor.

Outro parâmetro utilizado para avaliar a estabilidade das NLS, foi o potencial zeta, os valores obtidos podem ser observados na Figura 24. Todas as NLS apresentaram em média valores maiores que -25 mV durante o período de 30 dias de armazenamento. Nanopartículas com valores de potencial zeta de (+/-) 30mV, indicam uma boa estabilidade físico-química ao sistema coloidal, prevenindo possível agregação no sistema (KULKAMP et al., 2009). Com exceção da NLS C2-CUR, todas as formulações apresentaram diferenças significativas (Teste *T de Student* com $p > 0,05$) em função do período de armazenamento.

Figura 24 – Potencial zeta das NLS de C2-CUR, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 em função do tempo (0, 7, 15 e 30 dias).



Fonte: elaboração própria.

Tiyaboonchai et al. (2007) produziram NLS utilizando a técnica de microemulsão, a qual atingiram estabilidade durante 6 meses e obtendo partículas com diâmetro de 450 nm.

Sari et al. (2015) desenvolveram nanoemulsões contendo curcumina e posteriormente realizaram estudo de digestão simulada, de forma melhorar os problemas de instabilidade da curcumina e a sua biodisponibilidade.

Sabe-se que a característica do tensoativo influi nos valores do potencial zeta obtidos. Musyanovych et al. (2008) desenvolveram nanopartículas de poli (ácido L-láctico – PLLA) e observaram que a utilização de surfactantes iônicos nas nanopartículas, resultavam em partículas com valores de diâmetro e de polidispersão mais satisfatórios, em comparação a outros tipos de tensoativos.

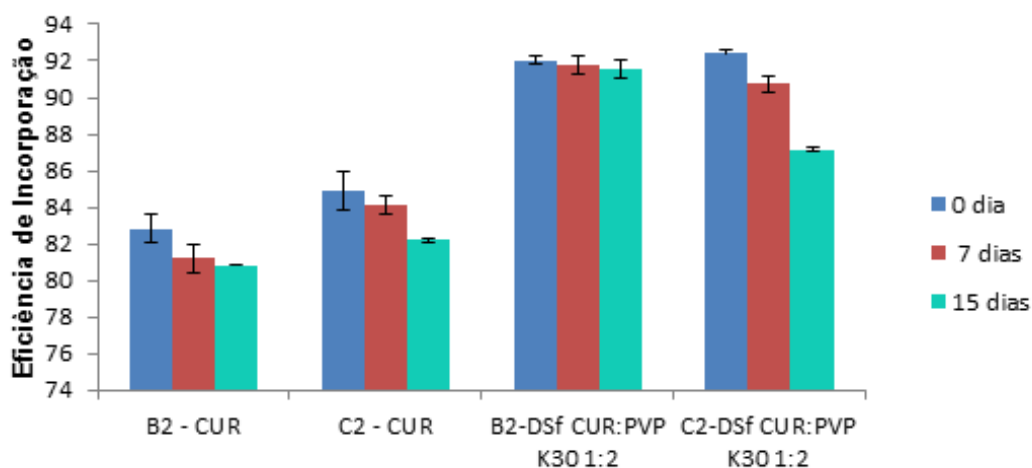
Nas NLS produzidas neste trabalho, faz-se o uso da lecitina de soja, utilizada como parte do sistema de tensoativos na formulação, o que promove a formação de uma barreira eletrônica, pois se trata de um estabilizante estereoquímico, o que impede a coalescência das partículas durante seu desenvolvimento e proporciona melhor estabilidade nas nanopartículas, dificultando sua agregação durante o período de armazenamento (YANG et al., 1999).

5.12.3 Eficiência de incorporação

Diversos fatores influenciam a quantidade de fármacos associado às nanopartículas, dentre os quais se destacam: as características físico-químicas do fármaco, o pH do meio, as características da superfícies das partículas ou a natureza do polímero, a quantidade de fármaco adicionada à formulação, a ordem de adição do fármaco na formulação das nanopartículas, bem como o tipo de surfactante utilizado (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; MEHNERT; MADER, 2001; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Na Figura 25 é apresentado os resultados da eficiência de incorporação em (%) das NLS de B2- CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, em função do tempo (0, 7 e 15 dias).

Figura 25 – Eficiência de incorporação (%) das NLS de B2- CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, em função do tempo (0, 7 e 15).



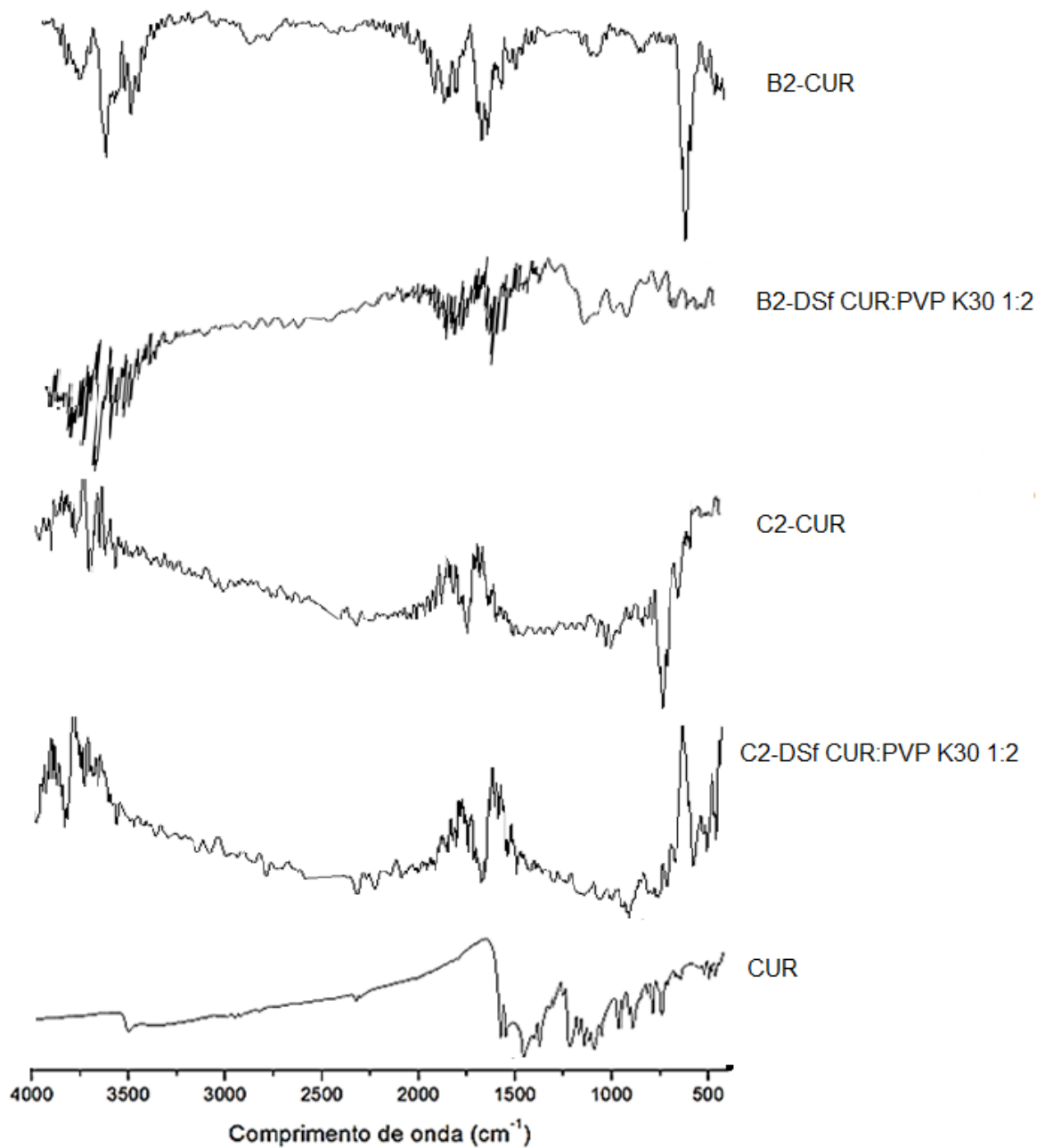
Fonte: elaboração própria.

Com base nos resultados da eficiência de incorporação observa-se que as NLS mostraram ser eficazes para a incorporação da CUR livre e da DSf-CUR:PVP K30 1:2. Entretanto a DSf mostrou ser mais eficaz para a incorporação. E durante os 15 dias de análises, as formulações apresentaram uma redução nesta taxa de encapsulação, isto pode ser um indicativo de problemas com a estabilidade das formulações.

5.12.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Forrier (FTIR)

A análise FTIR foi realizada para B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 (Figura 26).

Figura 26 – Espectros de FTIR das amostras de CUR, PVP K30, DSf CUR:PVP K30 1:2 e MF CUR:PVP K30 1:2



Fonte: Elaboração própria.

Através dos espectros, é possível observar estiramentos característicos para a CUR. Um estiramento em 3434 cm^{-1} , referente ao OH fenólico; em 2853 cm^{-1} , referente à ligação CH; em 1627 cm^{-1} , referente à ligação C=O da cetona conjugada; em 1456 cm^{-1} , referente à ligação CH_2 ; em 1429 cm^{-1} aparece o estiramento da ligação C=C do anel aromático e alifático; em 1384 cm^{-1} , referente à ligação CH_3 e em 1026 cm^{-1} observou-se o estiramento da ligação C-O-C do éter. Este resultado para FTIR da CUR está em acordo com os resultados descritos por Darandale e Vavia (2012), Gangwar et al. (2012) e Li et al. (2015).

Nos espectros das NLS B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 é possível observar um estiramento na região de 1740 cm^{-1} a 1650 cm^{-1} , característico da lecitina, grupamento C=O, conforme observado por NIRMALA et al., 2011. Um estiramento na região 1055 cm^{-1} a 820 cm^{-1} , referente ao grupamento R-O-P-O-R', também é observados nos espectros das NLS, conforme relatado por Silverstein, Webster e Kiemle (2007) e Nirmala et al. (2011).

Os mesmos estiramentos referentes à CUR podem ser observados nas B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2. Estes resultados mostram que não há interação química entre a CUR e os demais constituintes da formulação.

5.12.5 Calorimetria exploratória diferencial

As curvas termoanalíticas das NLS B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 são apresentadas na Figura 27.

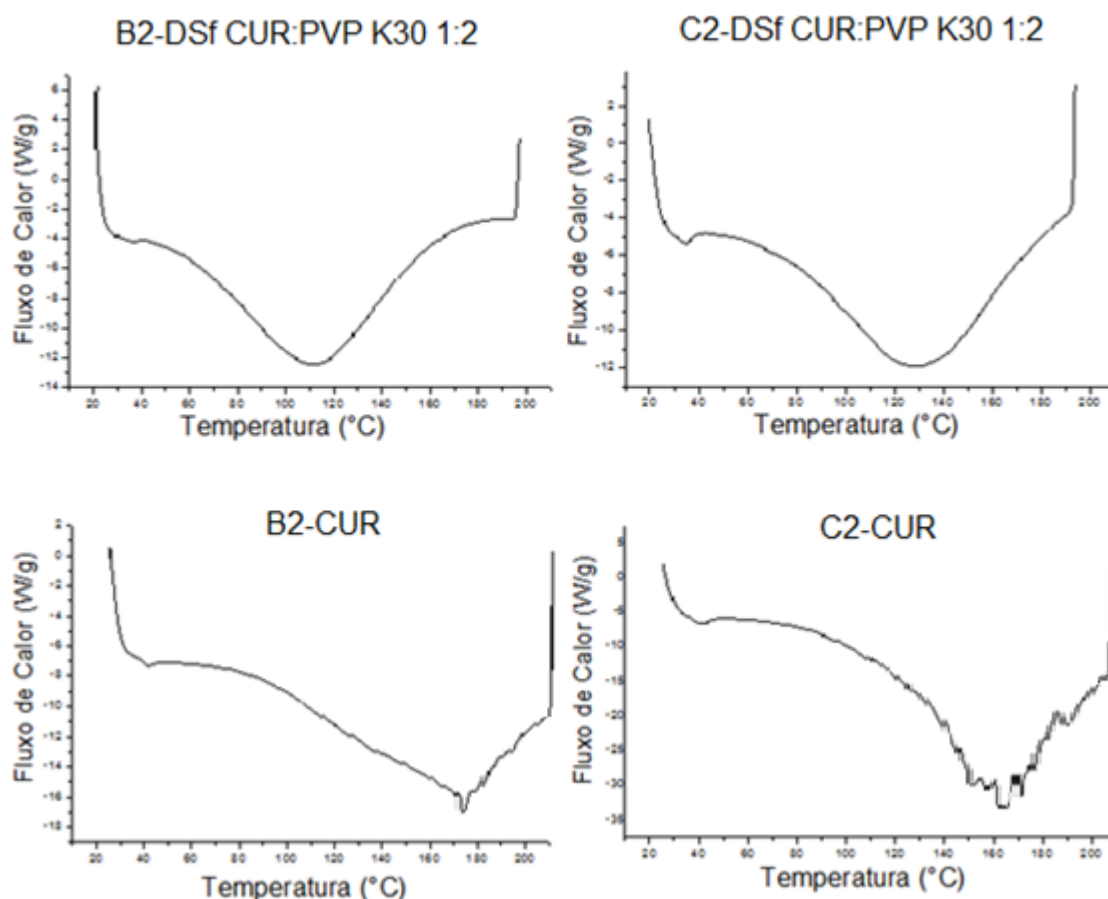
As NLS B2-CUR e C2-CUR são possíveis observar um evento térmico em $173,31^\circ\text{C}$, correspondente ao ponto de fusão da CUR descrito na literatura (WANG; MA; TU, 2015).

AS NLS incorporadas com DS obtida por fusão, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, não exibem nenhum evento térmico de fusão para CUR. Isto pode estar relacionado com a mudança do estado sólido da CUR, indicando uma possível amorfização.

O perfil da curva termoanalítica das NLS incorporadas com DS, exibe um evento endotérmico na faixa temperatura entre 50 e 150°C correspondente à desidratação do polímero e característicos de substâncias amorfas e higroscópicas,

resultados semelhantes a este foram observados por Sethia e Squillante (2004), e Zhang et al. (2008).

Figura 27 – Curvas termoanalíticas das amostras B2-DSf CUR:PVP K30 1:2, C2-DSf CUR:PVP K30 1:2, B2-CUR e C2-CUR



Fonte: Elaboração própria.

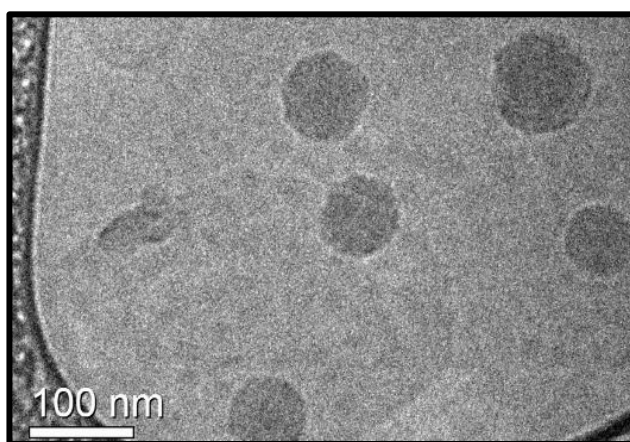
5.12.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão fornece uma avaliação precisa do tamanho e forma de uma nanopartículas. A MET pode permitir também a diferenciação entre nanocápsulas e nanoesferas, possibilitando, inclusive, a determinação da espessura da parede das nanocápsulas (CHO et al., 2013; GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007).

Pode-se observar na micrografia obtida para as NLS B2-CUR Figura 28, que todas as partículas apresentaram formato esférico de característica densa. Tamanho

em torno de 100 nm, o que difere dos resultados obtidos por espectroscopia de espalhamento de luz. Uma provável justificativa para isto, é que a técnica utilizada para preparação da amostra foi a crio-preparação, o que permite uma análise real da amostra. Desta forma, a microscopia eletrônica de transmissão fornece uma imagem da partícula separada do meio, enquanto que a técnica de espalhamento de luz dinâmico possibilita a determinação do volume hidrodinâmico das partículas (CHUAH et al., 2009; GERELLI et al., 2008).

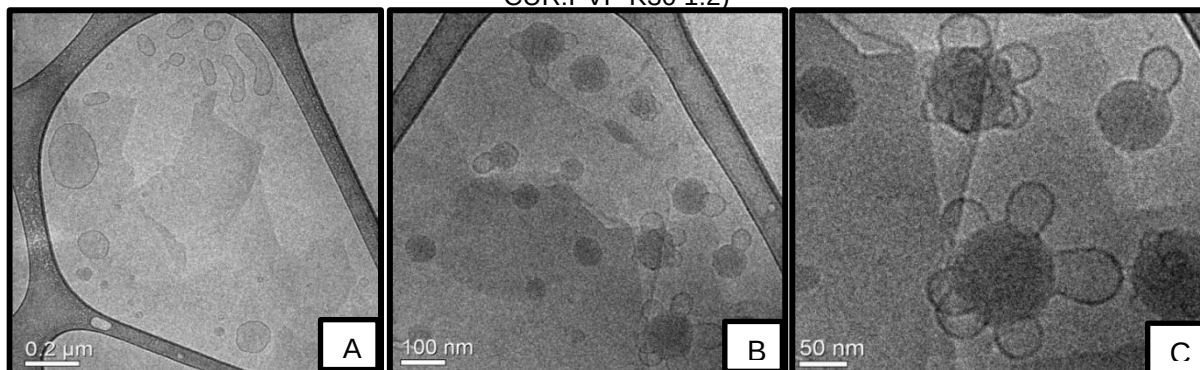
Figura 28 – Micrografia da NLS incorporada com CUR livre (B2-CUR) obtida por MET



Fonte: elaboração própria.

A Figura 29 traz a micrografia das NLS incorporadas com DS (B2-DSf CUR:PVP K30 1:2). Observa-se que apresentam estruturas diferenciadas, como partículas com parede irregular e deformadas e material residual que pode ser devido ao excesso de material lipídico ou polimérico. (Figura 29-A). Na Figura 29-B, observam-se partículas com no máximo 100 nm, e uma polidispersão elevada, o que difere dos resultados encontrados na técnica de espalhamento de luz dinâmico (150 nm). Apresentam partículas com núcleos densos, o que pode estar relacionado com a presença do lipídio. Na Figura 29- B e C observa-se a presença de partículas em formato de flor, onde o núcleo é denso, e isto pode ser atribuído à presença do PVP K30 nesta formulação. Neste caso, nossa interpretação está em acordo com Bershteyn et al. (2008) que descreva as NLS envolvidas por “pétalas”, formadas por lipídios e recobertas por tensoativos, de maneira que com essa conformação a tensão superficial está reduzida.

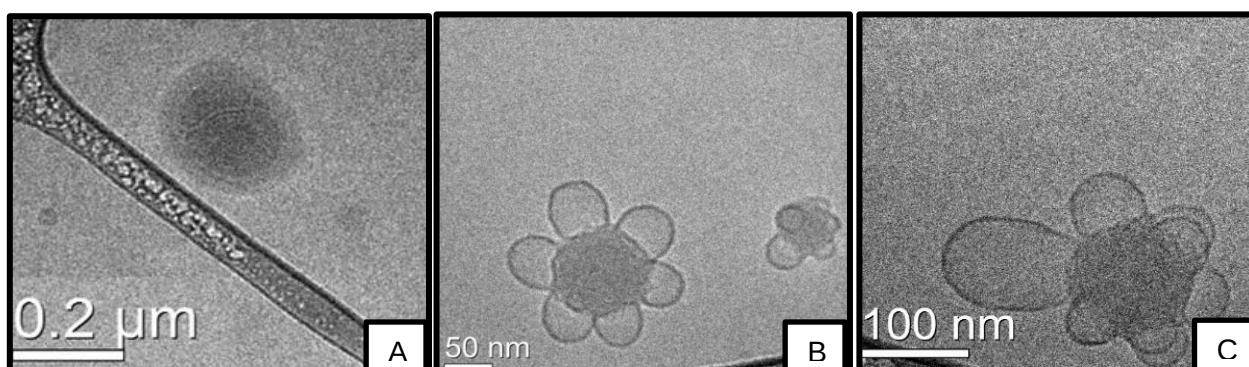
Figura 29 – Micrografias obtidas por MET das NLS incorporada com DS obtida por fusão (B2-DSf CUR:PVP K30 1:2)



Fonte: elaboração própria.

Pode se observar na Figura 30, correspondentes as micrografias da NLS C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 a presença de nanopartículas com estruturas distintas. Na Figura 30-A, a partícula, em torno de 200 nm, apresenta alo mais claro. Este fenômeno pode ser atribuído a camadas multilamelares de lipídios. Mandal et al. (2012) instituiu uma denominação para esta morfologia da nanopartícula lipídica (“onion stacks”) que lembra camada de uma cebola partida ao meio. Na Figura 30-B e 30C observa-se a presença das estruturas em formato de “flores”, onde o núcleo denso seria formado de polímero que se prolongam em pétalas formadas por uma bicamada lipídica. Na Figura 29C e 30B e C, é possível perceber que as prolongações no formato de pétalas não são homogêneas e ocorrem ao redor da nanopartícula lipídica.

Figura 30 – Micrografias das NLS incorporada com DS obtida por fusão (C2-DSf CUR:PVP K30 1:2)

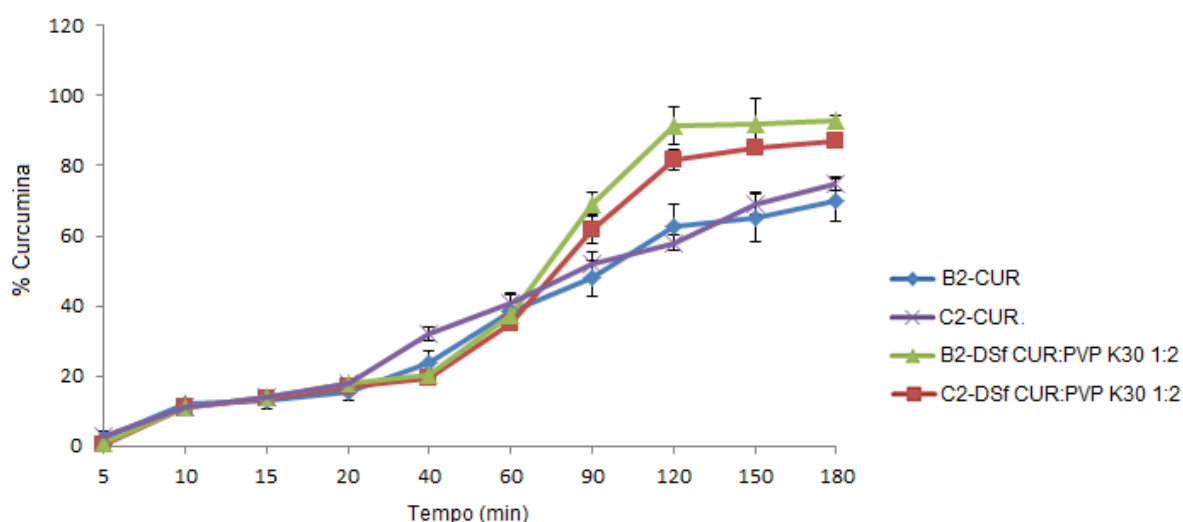


Fonte: elaboração própria.

5.12.7 Perfil de liberação e dissolução de CUR

Os perfis de liberação e dissolução (Figura 31) mostram que a CUR é liberada das NLS incorporadas com DS (B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2) de maneira controlada ao longo de 180 minutos. As NLS incorporadas com CUR livre apresentam liberação controlada, porém com tendência a aumentar a sua liberação durante um período maior de acompanhamento.

Figura 31 – Perfil de liberação e dissolução da CUR nas NLS B2-CUR, C2-CUR, B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2



Fonte: Elaboração própria.

Para as NLS B2-CUR e C2-CUR o percentual de liberação ao longo de 180 minutos foi de 70,2% e 75,0%, respectivamente.

Para as NLS B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 e C2-DSf CUR:PVP K30 1:2 o percentual de liberação ao longo de 180 minutos foi de 93,0% e 87,2%, respectivamente.

A análise desses resultados com base no percentual liberado e no perfil das curvas mostra que a liberação da CUR das NLS B2-CUR e C2-CUR, poderia continuar a ocorrer durante um período de controle maior que 180 minutos.

Puglia et al. (2012), desenvolveram nanopartículas lipídicas com curcumina e observaram um perfil de liberação sustentado.

Através do perfil de liberação da CUR, é possível observar que todas as formulações de NLS apresentam uma liberação lenta até 20 minutos, liberando

menos que 20%, fato este pode ser devido ao sistema proposto de nanopartículas, promovendo uma liberação controlada, isto indica estar havendo uma interação do ativo com as nanopartículas. Após este período observa-se que o comportamento do perfil de liberação é muito parecido entre as NLS.

Nayak et al. (2010) observa em seu estudo com nanopartículas lipídicas sólidas com curcumina, que em 12 horas de experiência de 70% de curcumina tinha sido liberado, e dentro de 24 horas de liberação era de cerca de 80%. O perfil de liberação prolongada pode indicar interações entre o lipídio e o ativo (KÜCHLER et al., 2009).

5.13 Conclusão

O presente trabalho forneceu informações importantes sobre o preparo e caracterização de NLS contendo CUR ou DSf CUR:PVP K30 1:2, preparadas pelo método de microemulsificação à quente.

As NLS preparadas com DS de CUR apresentaram uma eficiência de encapsulação maior quando comparadas as NLS preparadas apenas com CUR na sua forma não processada. A formulação B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 apresentou uma eficiência de encapsulação de aproximadamente 92%, mantendo-se estável durante o seu controle de armazenamento por 15 dias. As NLS com DS de CUR apresentaram diâmetro hidrodinâmico compreendido entre 120 a 160 nm, um índice de polidispersão de aproximadamente 0,3 e potencial zeta de aproximadamente -30 mV, em função do tempo, todas as formulações se mantiveram estáveis, sendo a B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 a que apresentou melhor estabilidade físico-química e maior taxa de incorporação de CUR. A temperatura de acondicionamento não teve influência direta nas variações do diâmetro hidrodinâmico e potencial zeta das nanopartículas, não apresentando variações significativas. Apenas para o índice de polidispersão apresentou alterações significativas.

Os resultados abrem novas perspectivas para o uso de sistemas de nanoestruturados para incorporação de CUR, os quais podem apresentar maior eficácia para o aproveitamento das propriedades farmacológicas da CUR.

5.14 Referências

BERSHTEYN, A. et al. Polymer-supported lipid shells, onions, and flowers. **Soft Matter**, Cambridge, v. 4, n. 9, p. 1787-1791, 2008.

BUSZEWSKI, B.; BOCIAN, S.; DZIUBAKIEWICZ, E. Zeta potential determinations, a new way of stationary phases characterization for liquid chromatography. **Journal of Microcolumn Separations**, Weinheim, v. 33, n. 11, p. 1519-1537, 2010.

CHO, E. J. et al. Nanoparticle characterization: state of the art, challenges, and emerging technologies. **Molecular Pharmaceutics**, Washington, DC, v. 10, n. 6, p. 2093-2110, 2013.

CHOI, K. C.; ADITYA, N. P.; KO, S. Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. **Food Chemistry**, Braking, v. 147, p. 239-244, 2014.

CHUAH, A. M. et al. Formation of biocompatible nanoparticles via the self-assembly of chitosan and modified lecithin. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 74, n. 1, p. 1-8, 2009.

DARANDALE, S. S.; VAVIA, P. R. Cyclodextrin-based nanosponges of curcumin: formulation and physicochemical characterization. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, Dordrecht, v. 75, n. 3, p. 315-322, 2012.

GANGWAR, R. K. et al. Conjugation of curcumin with PVP capped gold nanoparticles for improving bioavailability. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 32, n. 8, p. 2659-2663, 2012.

GAO, Y. et al. Preparation and characterization of intravenously injectable curcumin nanosuspension. **Drug Delivery**, Orlando, v. 18, n. 2, p. 131-142, 2011.

GASCO, M. R. **Method for producing solid lipid microspheres having a narrow distribution**. Washington: US Patent Nº 5250236, 1993.

GERELLI, Y. et al. Structure of self-organized multilayer nanoparticles for drug delivery. **Langmuir**, Washington, DC, v. 24, n. 20, p. 11378-11384, 2008.

GREENWOOD, R. Review of the measurement of zeta potentials in concentrated aqueous suspensions using electroacoustics. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 106, p. 55-81, 2003.

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

HEURTAULT, B. et al. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. **Biomaterials**, Guilford, v. 24, n. 23, p. 4283-4300, 2003.

KÜCHLER, S. et al. Influence of nanocarrier type and size on skin delivery of hydrophilic agents. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 377, n. 1-2, p. 169-172, 2009.

KULKAMP, I. C. et al. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2078-2084, 2009.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, Amsterdam, v. 75, n. 1, p. 1-18, 2010.

KUO, Y. C.; CHEN, I. C. Evaluation of surface charge density and surface potential by electrophoretic mobility for solid lipid nanoparticles and human brain microvascular endothelial cells. **Journal of Physics and Chemistry B**, Washington, DC, v. 111, n. 38, p. 11228-11236, 2007.

LI, J. et al. Curcumin-Eudragit® E PO solid dispersion: a simple and potent method to solve the problems of curcumin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 94, p. 322-332, 2015.

MANDAL, B. et al. Core-shell-type lipid-polymer hybrid nanoparticles as a drug delivery platform. **Nanomedicine**, New York, v. 9, n. 4, p. 474-491, 2013.

MARCATO, P. D. Preparation, characterization and application in drugs and cosmetics of lipid nanoparticles. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 6, n. 2, p. 1-37, 2009.

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

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles: a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, Benin City, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

MUSYANOVYCH, A. et al. Preparation of Biodegradable Polymer Nanoparticles by Miniemulsion Technique and Their Cell Interactions. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 8, n. 2, p. 127-139, 2008.

NAYAK, A. P., et al. Curcumin-loaded lipid nanoparticles: novel approach towards malaria treatment. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 263-273, 2010.

PUGLIA, C. et al. Curcumin loaded NLC induces histone hypoacetylation in the CNS after intraperitoneal administration in mice. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 81, n. 2, p. 288-293, 2012.

NIRMALA, R. Lecithin blended polyamide-6 high aspect ratio nanofiber scaffolds via electrospinning for human osteoblast cell culture. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 32, n. 2, p. 486-493, 2011.

SARI, T. P. et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 43, p. 540-546, 2015.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização físico-química e estabilidade de sistemas nanoestruturados para administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHULTZ, N. et al. Zeta potential measurements as a diagnostic tool in enzyme immobilization. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 1, n. 66, p. 39-44, 2008.

SCHWARZ, C.; MEHNERT, W. Solid lipid nanoparticle for controlled drug delivery. II. Drug incorporation and physicochemical characterization. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 16, n. 2, p. 205-213, 1999.

SETHIA, S., SQUILLANTE, E. Solid dispersion of carbamazepine in pvpk30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 272, n.1-2, p. 1-10, 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; FRANCIS, X. W.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

TIYABOONCHAI, W.; TUNGPRADIT, W.; PLIANBANGCHANG, P. Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 337, n. 1-2, p. 299-306, 2007.

WANG, J.; MA, W.; TU, P. The mechanism of self-assembled mixed micelles in improving curcumin oral absorption: In vitro and in vivo. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 133, p. 108-119, 2015.

XU, R. Progress in nanoparticles characterization: sizing and zeta potential measurement. **Particuology**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 112-115, 2008.

YANG, Y. et al. Body distribution in mice of intravenously injected camptothecin solid lipid nanoparticles and targeting effect on brain. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 59, n. 3, p. 299-307, 1999.

ZHANG, X. et al. Physical characterization of lansoprazole/PVP solid dispersion prepared by fluid-bed coating technique. **Powder Technology**, Lausanne, v. 182, n. 3, p. 480-485, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tecnologia das dispersões sólidas pela técnica de fusão apresentou melhores resultados quanto à solubilidade da CUR em água.

A análise dos resultados de MEV, DSC, DR-X revelou mudanças no estado sólido da CUR e diminuição tamanho de partículas da CUR.

As NLS preparadas com DS de CUR apresentaram uma eficiência de incorporação maior quando comparadas as NLS preparadas apenas com CUR livre.

A formulação B2-DSf CUR:PVP K30 1:2 apresentou a maior eficiência de incorporação.

A temperatura de acondicionamento não teve influência direta nas variações do diâmetro e potencial zeta NLS.

Os resultados abrem novas perspectivas para o uso de sistemas de nanoestruturados para incorporação de CUR, os quais podem apresentar maior eficácia para o aproveitamento das propriedades farmacológicas da CUR

REFERÊNCIAS

- ABDOU, H. M. **Dissolution, bioavailability e bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company, 1989.
- AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 40-59, 2009.
- AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHARTI, A. C. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, Athens, v. 23, n. 1A, p. 363-398, 2003.
- AHLIN, P.; KRISTL, J.; SMID-KOBAR, J. Optimization of procedure parameters and physical stability of solid lipid nanoparticles in dispersions. **Acta Pharmaceutica**, [s.l.], v. 48, p. 257-267, 1998.
- AK, T.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **Chemico-Biological Interactions**, Amsterdam, v. 174, n. 1, p. 27-37, 2008.
- ALDEN, M.; TEGENFELDT, J.; SJOKVIST, E. Structure of solid dispersions in the system polyethyleneglycol-griseofulvin with additions of sodium dodecyl sulfate. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 83, n. 1-3, p. 47-52, 1992.
- ALMEIDA, L. P. **Caracterização de pigmentos da *Curcuma longa* L**: avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese *in vitro* na produção de curcuminóides e óleos essenciais. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.
- AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.
- AMORIM, A. M. et al. Complexos formados entre poliacrilamida, polivinilpirrolidona e sais de Cu: propriedades térmicas e espectroscópicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAS, CBECIMat, 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2006.
- ANITHA, A. et al. Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 83, n. 2, p. 452-461, 2011.
- ARAÚJO, A. A. S. et al. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.

ARAÚJO, A. A. S. et al. Thermal analysis of the antirretroviral zidovudine (AZT) and avaluation of the compatibility with excipientes used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 260, n. 2, p. 303-314, 2003.

ARYA, P.; PATHAK, K. Assessing the viability of microsponges as gastro retentive drug delivery system of curcumin: optimization and pharmacokinetics. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 460, n. 1-2, p. 1-12, 2014.

ASSIS, L. M. et al. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

BARRETO, M.; BICA, A.; FARINHA, A. Sistemas de classificação biofarmacêutica. **Bol. LEF**, Lisboa, v. 32, p. 2-10, 2002.

BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 6, p. 4567-4598, 2011.

BERSHTEYN, A. et al. Polymer-supported lipid shells, onions, and flowers. **Soft Matter**, Cambridge, v. 4, n. 9, p. 1787-1791, 2008.

BHATIA, M. et al. Nanoparticle Technology for the Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs. **Pharmaceutical Technology**, [s.l.], v. 2, 2006.

BHAWANA et al. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 5, p. 2056-2061, 2011.

BIKIARIS, D. et al. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 439, n. 1-2, p. 58-67, 2005.

BIKIARIS, D. N. Solid dispersions, part I: recent evolutions and future opportunities in manufacturing methods for dissolution rate enhancement of poorly water-soluble drugs. **Expert Opinion on Drug Delivery**, London, v. 8, n. 11, p. 1501-1519, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n. 899, de 02 de junho de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 jun. 2003.

BREITENBACH, J. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. **European Journal oh Pharmaceutics and Bipharmaceutics**, Stuttgart, v. 54, n. 2, p. 107-117, 2002.

BROMAN, E.; KHOO, C.; TAYLOR, L. S. A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 222, n. 1, p. 139-151, 2001.

- BUHRMANN, C. et al. Curcumin mediated suppression of nuclear factor-kappaB promotes chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells in a high-density co-culture microenvironment. **Arthritis Research and Therapy**, London, v. 12, n. 4, p. R127, 2010.
- BUSZEWSKI, B.; BOCIAN, S.; DZIUBAKIEWICZ, E. Zeta potential determinations, a new way of stationary phases characterization for liquid chromatography. **Journal of Microcolumn Separations**, Weinheim, v. 33, n. 11, p. 1519-1537, 2010.
- CALLISTER, W. D. J.; RETHWISH, D. G. **Materials science and engineering**. 8th. ed. Philadelphia: Wileys & Sons, 2009.
- CARCAMANO, E. C.; GANA, I. M. Eutetic mixtures and solid solution of acetylsalicylic acid and urea. Stability of acetylsalicylic acid. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 40, p. 487-493, 1974.
- CHAUD, M. V. et al. Solid dispersions with hydrogenated castor oil increase solubility, dissolution rate and intestinal absorption of praziquantel. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 46, n.3, p. 473-481, 2010.
- CHAUHAN, B.; SHIMPI, S.; PARADKAR, A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 219-230, 2005.
- CHEN, C. et al. An in vitro study of liposomal curcumin: Stability, toxicity and biological activity in human lymphocytes and Epstein-Barr virus-transformed human B-cells. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 366, n. 1-2, p. 133-139, 2009.
- CHIOU, W. L. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems: X-ray diffraction and aqueous solubility studies on griseofulvin-polyethyleneglycol 6000 systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 66, n. 7, p. 989-991, 1977.
- CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 60, n. 9, p. 1281-1301, 1971.
- CHO, E. J. et al. Nanoparticle characterization: state of the art, challenges, and emerging technologies. **Molecular Pharmaceutics**, Washington, DC, v. 10, n. 6, p. 2093-2110, 2013.
- CHOI, K. C.; ADITYA, N. P.; KO, S. Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. **Food Chemistry**, Braking, v. 147, p. 239-244, 2014.
- CHUAH, A. M. et al. Formation of biocompatible nanoparticles via the self-assembly of chitosan and modified lecithin. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 74, n. 1, p. 1-8, 2009.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

CIRRI, M. et al. Characterization of ibuprofen binary and ternary dispersion with hydrophilic carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 30, n. 1, p. 65-74, 2004.

CORRIGAN, D. O.; HEALY, N. M.; CORRIGAN, O. I. The effect of spray drying solutions of polyethylene glycol (PEG) and lactose/ PEG on their physicochemical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 235, n. 1-2, p. 193-205, 2002.

CORTI, G. et al. Physicochemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 480-486, 2007.

DARANDALE, S. S.; VAVIA, P. R. Cyclodextrin-based nanosponges of curcumin: formulation and physicochemical characterization. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, Dordrecht, v. 75, n. 3, p. 315-322, 2012.

DEDAVID, B. A.; GOMER, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.

DORNELAS, C. B. et al. Preparação e avaliação reacional de nanocompósitos de PVP K-30 – montmorilonita (natural e organicamente modificada) por difração de raios X. **Polímeros**, São Carlos, v. 18, n. 2, p. 187-192, 2008.

DRESSMAN, J. B. et al. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 15, n. 1, p. 11- 22, 1998.

DUARTE, L. C. et al. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: exemplos brasileiros. **Pesquisas em Geociências**, Porto Alegre, v. 30, n. 2, p. 3-15, 2003.

EMARA, L. H.; BADR, R. M.; ELBARY, A. A. Improving the dissolution and bioavailability of nifedipine using solid dispersions and solubilizers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 28, n. 7, p. 795-807, 2002.

EPSTEIN, J.; SANDERSON, I. R.; MACDONALD, T. T. Curcumin as a the therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 11, p. 1545-1557, 2010.

ESTELLA-HERMOSO DE MENDOZA, A. et al. Lipid nanomedicines for anticancer drug therapy. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, Stevenson Ranch, v. 5, n. 4, p. 323-343, 2009.

FORSTER, A. et al. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs by solubility parameter calculation and thermal analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 226, n. 1-2, p. 147-161, 2001.

FRICKER, G. et al. Phospholipids and lipid-based formulations in oral drug delivery. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 27, n. 8, p. 1469-1486, 2010.

GANGWAR, R. K. et al. Conjugation of curcumin with PVP capped gold nanoparticles for improving bioavailability. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 32, n. 8, p. 2659-2663, 2012.

GAO, Y. et al. Preparation and characterization of intravenously injectable curcumin nanosuspension. **Drug Delivery**, Orlando, v. 18, n. 2, p. 131-142, 2011.

GASCO, M. R. **Method for producing solid lipid microspheres having a narrow distribution**. Washington: US Patent Nº 5250236, 1993.

GERELLI, Y. et al. Structure of self-organized multilayer nanoparticles for drug delivery. **Langmuir**, Washington, DC, v. 24, n. 20, p. 11378-11384, 2008.

GILDA, S. et al. Activity of water-soluble turmeric extract using hydrophilic excipients. **Food Science and Technology**, Zürich, v. 43, n. 1, p. 59-66, 2010.

GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “curecumin”. From kitchen to clinic. **Biochemistry Pharmacology**, Oxford, v. 75, n. 4, p. 787-809, 2008.

GOHEL, M. C.; PATEL, L. D. Processing of nimesulide-PEG 400-PG-PVP solid dispersions: preparation, characterization and in vitro dissolution. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 29, n. 3, p. 299-310, 2003.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric – Chemistry, technology and quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

GREENWOOD, R. Review of the measurement of zeta potentials in concentrated aqueous suspensions using electroacoustics. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 106, p. 55-81, 2003.

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

HENROTIN, Y. et al. Biological actions of curcumin on articular chondrocytes. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 18, n. 2, p. 141-149, 2010.

HERTWIG, L. F. V. **Plantas aromáticas e medicinais**. São Paulo: Icone, 1986.

HEURTAULT, B. et al. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. **Biomaterials**, Guilford, v. 24, n. 23, p. 4283-4300, 2003.

HOU, D. et al. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). **Biomaterials**, Guilford, v. 24, n. 10, p. 1781-1785, 2003.

HU, F. Q. et al. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 45, n. 3-4, p. 167-173, 2005.

HU, J. et al. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 30, n. 3, p. 233-245, 2004.

JAFARI, M. R.; DANTI, A. G.; AHMED, I. Comparison of polyethyleneglycol, polyvinylpyrrolidone and urea as excipients for solid dispersion systems of miconazole nitrate. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 48, n. 1-3, p. 207-215, 1988.

JANSSENS, S. et al. Characterization of ternary solid dispersions of Itraconazole in polyethylene glycol 6000/polyvidonevinylacetate 64 blends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 69, n. 3, p. 1114-1120, 2008.

JUNYAPRASERT, V. B.; MORAKUL, B. Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hong Kong, v. 10, n. 1, p. 13-23, 2015.

JURENKA, J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of pre-clinical and clinical research. **Alternative Medicine Review**, Sandpoint, v. 14, n. 2, p. 141-153, 2009.

KAERNOPPARAT, N. et al. Increased Solubility, Dissolution and Physicochemical Studies of Curcumin-Polyvinylpyrrolidone K-30 Solid Dispersions. **Engineering and Technology**, [s.l.], v. 31, p. 225-230, 2009.

KARAVAS, E. et al. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug-polymer interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 66, n. 3, p. 334-347, 2007.

KAROLEWICZ, B. et al. Solid dispersion in pharmaceutical technology. Part I. Classification and methods to obtain solid dispersion. **Polimery w Medycynie**, Wroclaw, v. 42, n. 1, p. 17-27, 2012.

KIP, J. E. The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly watersoluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 284, n. 1-2, p. 109-122, 2004.

KRISTL, J. et al. Interactions of solid lipid nanoparticles with model membranes and leukocytes studied by EPR. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 256, n. 1-2, p. 133-140, 2003.

KÜCHLER, S. et al. Influence of nanocarrier type and size on skin delivery of hydrophilic agents. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 377, n. 1-2, p. 169-172, 2009.

KULKAMP, I. C. et al. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2078-2084, 2009.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, Amsterdam, v. 75, n. 1, p. 1-18, 2010.

KUO, Y. C.; CHEN, I. C. Evaluation of surfasse charge density and surfasse potential by electrophoretic mobility for solid lipid nanoparticles and human brainmicrovascular endotelial cells. **Journal of Physics and Chemistry B**, Washington, DC, v. 111, n. 38, p. 11228-11236, 2007.

KURIEN, B. T. et al. Improving the solubility and pharmacological efficacy of curcumin by heat treatment. **Assay and Drug Development Technologies**, Larchmont, v. 5, n. 4, p. 567-576, 2007.

LANDER, R. et al. Gaulin homogenization: a mechanistic study. **Biotechnology Progress**, New York, v. 16, n. 1, p. 80-85, 2000.

LANGER, M. et al. Investigations on the predictability of the formation of glassy solid solutions of drugs in sugar alcohols. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 252, n. 1-2, p. 167-179, 2003.

LI, J. et al. Curcumin-Eudragit® E PO solid dispersion: a simple and potent method to solve the problems of curcumin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 94, p. 322-332, 2015.

LI, L.; BRAITEH, F. S.; KURZROCK, R. Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. **Cancer**, Honoken, v. 104, n. 6, p. 1322-1331, 2005.

LIMA, A. C. **Preparação de dispersões sólidas de praziquantel com polivinilpirrolidona pelo processo do fluido supercrítico**. 2009. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

LIN, X. et al. Preparation and characterization of monocaprato nanostructured lipid carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 311, n. 1-3, p. 106-111, 2007.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrinsolubilization of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 302, n. 1-2, p. 18-28, 2005.

LOFTSSON, T.; MÁSSON, M.; BREWSTER, M. E. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 93, n. 5, p. 1091-1099, 2004.

MAHESHWARI, R. K. et al. Multiple biological activities of curcumin: short review. **Life Sciences**, Oxford, v. 78, n. 18, p. 2081-2087, 2006.

MAHESHWARI, R. K.; JAGWANI, Y. Mixed Hydrotrophy: novel science of solubility enhancement. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Bombay, v. 73, n. 2, p. 179-183, 2011.

MAIA, N. B. A cúrcuma como corante. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS. **Anais...** Campinas, 1991.

MAIA, N. B. et al. Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de cúrcuma. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n. 1. p. 33-37, 1995.

MANDAL, B. et al. Core-shell-type lipid-polymer hybrid nanoparticles as a drug delivery platform. **Nanomedicine**, New York, v. 9, n. 4, p. 474-491, 2013.

MANJUNATH, K.; REDDY, J. S.; VENKATESWARLU, V. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, Barcelona, v. 27, n. 2, p. 1-20, 2005.

MARCATO, P, D. Preparation, characterization and application in drugs and cosmetics of lipid nanoparticles. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 6, n. 2, p. 1-37, 2009.

MAY, A. et al. Desenvolvimento e produtividade da cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em função de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínea, v. 7, n. 3, p. 1-7, 2005.

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

MENG, F. et al. Investigation and correlation of drug polymer miscibility and molecular interactions by various approaches for the preparation of amorphous solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 71, p. 12-24, 2015.

MESA, M. D. et al. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. **Ars Pharmaceutica**, Granada, v. 41, n. 3, p. 307-321, 2006.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles: a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, Benin City, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

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

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

MUSYANOVYCH, A. et al. Preparation of Biodegradable Polymer Nanoparticles by Miniemulsion Technique and Their Cell Interactions. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 8, n. 2, p. 127-139, 2008.

NAYAK, A. P., et al. Curcuminoida-loaded lipid nanoparticles: novel approach towards malariatreatment. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 263-273, 2010.

NIRMALA, R. Lecithin blended polyamide-6 high aspect ratio nanofiber scaffolds via electrospinning for human osteoblast cell culture. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 32, n. 2, p. 486-493, 2011.

OKADA, K. et al. Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stressinduced renal injury in mice. **The Journal of Nutrition**, Springfield, v. 31, n. 8, p. 2090-2095, 2001.

PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N. S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 201, n. 2, p. 131-150, 2000.

PARADKAR, A. et al. Characterization of curcumin–PVP solid dispersion obtained by spray drying. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 271, n. 1-2, p. 281-286, 2004.

PARI, L.; TEWAS, D.; ECKEL, J. Role of curcumin in health and disease. **Archives of Physiology and Biochemistry**, Lisse, v. 2, n. 114, p. 127-149, 2008.

PATEL, R. P. et al. Physicochemical characterization and dissolution study of solid dispersions of furosemide with polyethylene glycol 6000 and polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Technologies**, Hockessin, v. 15, n. 3, p. 17-25, 2008.

PATIL, P. H.; BELGAMWAR, V. S.; PATIL, P. R. Enhancement of solubility and dissolution rate of poorly water soluble raloxifene using microwave induced fusion method. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 571-578, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução a espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

POTTA, S. G. et al. Preparation and characterization of ibuprofeno soli lipid nanoparticles with enhanced solubility. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 28, n. 1, p. 74-81, 2011.

PUGLIA, C. et al. Curcumin loaded NLC induces histone hypoacetylation in the CNS afterintraperitoneal administration in mice. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 81, n. 2, p. 288-293, 2012.

RAMA, A. C. R. et al. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 59-68, 2006.

RAMALINGAM, P.; KO, Y. T. Enhanced oral delivery of curcumin from N-trimethyl chitosan surface-modified solid lipid nanoparticles: pharmacokinetic and brain distribution evaluations. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 32, n. 2, p. 389-402, 2015.

REICH, G. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 57, n. 8, p. 1109-1143, 2005.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROUCHOTAS, C.; CASSIDY, O. E.; ROWLEY, G. Comparison of surface modification and solid dispersion techniques for drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 195, n. 1-2, p. 1-6, 2000.

SAERS, E. S.; NYSTROM, C.; ALDEN, M. Physicochemical aspects of drug release. XVI. The effect of storage on drug dissolution from solid dispersions and the influence of cooling rate and incorporation on surfactant. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 90, n. 2, p. 105-118, 1993.

SANTOS, A. S. **Avaliação das propriedades do estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona**. 2008. 107f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SARI, T. P. et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 43, p. 540-546, 2015.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização físico-química e estabilidade de sistemas nanoestruturados para administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHULTZ, N. et al. Zeta potential measurements as a diagnostic tool in enzyme immobilization. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 1, n. 66, p. 39-44, 2008.

SCHWARZ, C.; MEHNERT, W. Solid lipid nanoparticle for controlled drug delivery. II. Drug incorporation and physicochemical characterization. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 16, n. 2, p. 205-213, 1999.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutectic mixture: comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 9, n. 11, p. 866-872, 1961.

SEO, S.W. et al. Preparation and pharmacokinetic evaluation of curcumin solid dispersion using Solutol® HS15 as a carrier. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 424, n. 1-2, p. 18-25, 2012.

SERAJUDIN, A. T. M. Solid Dispersion of poorly water-soluble drugs: Early promises subsequent problems, and recent breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 88, n. 10, p. 1058-1066, 1999.

SETHIA, S., SQUILLANTE, E. Solid dispersion of carbamazepine in pvpk30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 272, n.1-2, p. 1-10, 2004.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, Boca Raton, v. 20, n. 2-3, p. 215-247, 2003.

SEVERINO, P. et al. Current state-of-art and new trends on lipid nanoparticles (SLN and NLC) for oral drug delivery. **Journal of Drug Delivery**, Cairo, n. 750891, p. 1-10, 2012.

SHARGEL, L.; YU, A. B. C. Biopharmaceutics. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J. C. (Orgs.). **Encyclopedia of pharmaceutical technology**. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 156-176.

SILVERSTEIN, R. M.; FRANCIS, X. W.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SOMPARN, P. et al. Comparative antioxidant activities of curcumin and its demethoxy and hydrogenated derivatives. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 30, n. 1, p. 74-78, 2007.

SRINARONG, P. et al. Improved dissolution behavior of lipophilic drugs by solid dispersions: the production process as starting point for formulation considerations. **Expert Opinion on Drug Delivery**, London, v. 8, n. 9, p. 1121-1140, 2011.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica**: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: [s.n.], 1999.

TIYABOONCHAI, W.; TUNGPRADIT, W.; PLIANBANGCHANG, P. Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 337, n. 1-2, p. 299-306, 2007.

UNER, M. Preparation, characterization and physic-chemical properties of SLN and NLC: their benefits as colloidal drug carrier system. **Die Pharmazie**, Berlin, v. 61, n. 5, p. 375-386, 2006.

- VAN DROOGE, D. J. et al. Characterizations of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersion at nanometer scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 310, n. 1-2, p. 220-229, 2006.
- VASANTHAVADA, M. et al. Phase behavior of amorphous molecular dispersions II: role of hydrogen bonding in solid solubility and phase separation kinetics. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 22, n. 3, p. 440-448, 2005.
- VERMA, M. M. et al. Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam, nicotinamide solid dispersion formulations. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v. 142, n. 3, p.119-24, 2003.
- WANG, J.; MA, W.; TU, P. The mechanism of self-assembled mixed micelles in improving curcumin oral absorption: In vitro and in vivo. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v. 133, p. 108-119, 2015.
- WARREN, D. B. et al. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: a mechanistic basis for utility. **Journal of Drug Targeting**, Yverdon, v. 18, n. 10, p. 704-31, 2010.
- WENDHAUSEN, P. A. Caracterização de matérias III. **Análises Térmicas**, [s.l.], v. 1, p. 223-245, 2005.
- WESTESEN, K. Novel lipid-based colloidal dispersions as potential drug administration systems - expectations and reality. **Colloid Polymer Science**, Darmstadt, v. 278, n. 7, p. 608-618, 2000.
- WEUTS, I. et al. Salt formation in solid dispersions consisting of polyacrylic acid as a carrier and three basic model compounds resulting in very high glass transition temperatures and constant dissolution properties upon storage. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 25, n. 4-5, p. 387-393, 2005.
- WISSING, S. A.; KAYSERB, O.; MÜLLER, R. H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 56, n. 9, p. 1257- 1272, 2004.
- XIAO, Z. et al. Potential therapeutic effects of curcumin: relationship to microtubule-associated proteins 2 in Abeta1-42 insult. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1361, p. 115-123, 2010.
- XU, R. Progress in nanoparticles characterization: sizing and zeta potential measurement. **Particuology**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 112-115, 2008.
- YANG, Y. et al. Body distribution in mice of intravenously injected camptothecin solid lipid nanoparticles and targeting effect on brain. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 59, n. 3, p. 299-307, 1999.

ZHANG, N. Lectin-modified solid lipid nanoparticles as carriers for oral administration of insulin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 327, n. 1-2, p. 153-159, 2006.

ZHANG, X. et al. Physical characterization of lansoprazole/PVP solid dispersion prepared by fluid-bed coating technique. **Powder Technology**, Lausanne, v. 182, n. 3, p. 480-485, 2008.