



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**NANOVEICULAÇÃO DE POLIFENÓIS**

Trabalho submetido por  
**Andreia Isabel Barradas Correia**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**outubro de 2014**



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**NANOVEICULAÇÃO DE POLIFENÓIS**

Trabalho submetido por  
**Andreia Isabel Barradas Correia**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Alexandra Bernardo**

**outubro de 2014**



## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho àquelas que entraram na minha vida nestes últimos cinco anos. Às que permaneceram como colegas e às que se tornaram amigas. Cada uma à sua maneira, todas têm a minha consideração neste percurso acadêmico. Os meus parabéns às que como eu chegaram ao fim com muito esforço, sacrifício e dedicação. Para aquelas que só daqui a um ano estarão na nossa situação, pensem em nós quando se virem perdidas, nunca pensem em desistir, nunca foi o nosso lema. Conseguimos tudo aquilo que nos esforçamos para alcançar!

*"Cada um que passa na nossa vida passa sozinho, pois cada pessoa é única, e nenhuma substitui outra.  
Cada um que passa na nossa vida passa sozinho, mas não vai só, nem nos deixa sós. Leva um pouco de nós mesmos,  
deixa um pouco de si mesmo.  
Há os que levam muito; mas não há os que não levam nada.  
Há os que deixam muito; mas não há os que não deixam nada.  
Esta é a maior responsabilidade de nossa vida e a prova evidente que duas almas não se encontram ao acaso."*

Saint-Exupéry



## AGRADECIMENTOS

Obrigada pais! Obrigada por aquilo que sou hoje. Obrigada por serem o meu exemplo de vida. Obrigada pelo reconhecido sacrifício que fizeram ao longo destes anos para que a minha formação fosse possível.

Obrigada madrinha Isilda, Américo, afilhadas Bia e Patia por me terem acolhido em vossa casa quando vim iniciar esta nova etapa.

Agradeço à Prof. Doutora Alexandra Bernardo na condição de professora, pela ajuda prestada no meu primeiro ano e na condição de orientadora pela dedicação e disponibilidade que teve na realização deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Doutor Álvaro Lopes por os conhecimentos que me transmitiu e que tanto me motivaram e despertaram curiosidade na unidade curricular que lecionou – Toxicologia.

Obrigada Cátia Martins, não só pelas tuas revisões de língua portuguesa neste trabalho, mas por teres feito parte da minha vida de forma tão intensa nestes anos.

Obrigada Maria Leonor Pedro, vais ser a amiga da faculdade que vou levar para a vida!

Como ficar para último não quer dizer que seja menos importante, obrigada à melhor colega de casa de sempre Mafalda Almeida.

Agradeço ainda à Dra. Carla Martins, à Maria João Silva e à Mafalda Almeida pela sua preciosa ajuda técnica na elaboração deste trabalho.



## RESUMO

Os polifenóis têm despertado um crescente interesse na comunidade médica e científica devido à associação da sua capacidade antioxidante com efeito benéfico em patologias como o cancro e a Doença de Alzheimer.

Apesar do efeito benéfico, a biodisponibilidade dos polifenóis é reduzida, como se tem evidenciado em vários estudos.

Nesse sentido, métodos para aumentar a biodisponibilidade destes compostos têm sido alvo de pesquisa. Uma das vertentes exploradas tem sido a nanotecnologia que se tem revelado como um potencial sistema de libertação controlada de fármacos.

É crescente o número de publicações que evidenciam o potencial terapêutico de polifenóis incorporados em nanossistemas, como a encapsulação lipossomal.

O aumento da biodisponibilidade de polifenóis como a curcumina e o resveratrol num futuro próximo, poderá ser crucial para a inclusão destes compostos naturais no tratamento de diversas patologias.

Assim, esta monografia tem como objetivo principal tornar visível o estado da arte relativamente a esta temática, surgindo como uma revisão bibliográfica das nanoformulações terapêuticas capazes de oferecer uma libertação controlada de fármacos e dos respetivos resultados de biodisponibilidade.

Palavras-chave: “nanotecnologia”, “polifenóis”, “sistemas de libertação controlada de fármacos”, “biodisponibilidade”, “curcumina”, “resveratrol”, “cancro”



## ABSTRACT

Polyphenols have aroused a growing interest in the medical and scientific community due to their antioxidant capacity associated with a beneficial effect in diseases like cancer and Alzheimer's disease.

Despite the beneficial effect, the availability of polyphenols is reduced, as has been shown in several studies.

Thus, methods for increasing the availability of these compounds have been the subject of research. One of the areas studied has been nanotechnology which has proved to be a potential drug delivery system.

The number of publications that demonstrate the therapeutic potential of polyphenols incorporated in nanosystems, such as encapsulation liposome, is growing.

In the near future, the increase of availability of polyphenols such as curcumin and resveratrol may be critical for the inclusion of these natural compounds in the treatment of various diseases.

Thus, this dissertation has as main goal to make visible the state of the art regarding this theme, emerging as a bibliographic review of therapeutic nanoformulations able to provide a controlled drug delivery system and the respective results of availability.

Keywords: “nanotechnology”, “polyphenols”, “drug delivery systems”, “availability”, “curcumin”, “resveratrol”, “cancer”



## ÍNDICE

	PÁGINAS
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. NANOTECNOLOGIA	19
1.1.1. ENQUADRAMENTO HISTÓRICO	19
1.1.2. APLICAÇÕES PRÁTICAS	20
1.1.3. BENEFÍCIOS E RISCOS	21
1.1.4. CARACTERÍSTICAS DA NANOVEICULAÇÃO NA PERSPETIVA FARMACÊUTICA	21
1.2. POLIFENÓIS	24
2. METODOLOGIA DE PESQUISA BIBLIOGRÁFICA	27
3. RESULTADOS	29
3.1. ABORDAGEM TERAPÊUTICA DOS POLIFENÓIS EM SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS	29
3.1.1. APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA NO CANCRO	29
3.1.1.1. GENISTEÍNA	29
3.1.1.2. CURCUMINA	30
3.1.1.3. QUERCETINA	32
3.1.1.4. CATEQUINAS	34
3.1.1.5. RESVERATROL	35
3.1.2. APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA NA DOENÇA DE ALZHEIMER	39
3.1.3. APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA EM VERRUGAS VAGINAIS / INFLAMAÇÃO VAGINAL	40
3.1.4. APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA EM FERIDAS CUTÂNEAS	41
3.1.5. APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA NO HIV/SIDA	41
3.2. ENSAIOS CLÍNICOS	44
4. CONCLUSÃO	45
5. BIBLIOGRAFIA	47



ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINAS
Figura 1- Escala comparativa de estruturas de pequenas dimensões	19
Figura 2- Potencial ação dos polifenóis em diferentes patologias	24
Figura 3- Modelo de micela para transporte de fármacos insolúveis em água	33
Figura 4- Vantagens da formulação nanomicelar na atividade anticancerígena da quercetina	34
Figura 5- Proposta de percurso e interações do resveratrol quando administrado por via oral na forma livre e num sistema de libertação controlada	36
Figura 6- Representação esquemática de nanopartículas lipídicas sólidas e de nanopartículas lipídicas sólidas revestidas com quitosano	37
Figura 7- Imagem morfológica das nanopartículas lipídicas sólidas por microscopia eletrónica de varrimento	38
Figura 8- Percentagem de publicações de resveratrol durante os últimos 74 anos	45



ÍNDICE DE TABELAS

	PÁGINAS
Tabela 1- Áreas e aplicações da nanotecnologia	20
Tabela 2- Benefícios e riscos da nanotecnologia	21
Tabela 3- Características das nanoestruturas usadas em sistema de liberação controlada de fármacos	23
Tabela 4- Classes e estrutura química dos polifenóis	25
Tabela 5- Estudos da incorporação da curcumina e do resveratrol em sistemas de liberação controlada	42
Tabela 6- Ensaios clínicos que estudam a ação terapêutica do resveratrol	44



## LISTA DE ABREVIATURAS

ALG – Alginato

CMCH – Retículo de quitosano carboximetilado

CS – Quitosano

DA – Doença de Alzheimer

DDS – Sistemas de libertação controlada de fármacos

ECGC – Epigalo-catequina-3-galato

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

IGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

IGFBO<sub>3</sub> – Proteína de ligação-3 do IGF

NF-kB – Fator nuclear k que ativa as células B

NLS – Nanopartículas lipídicas sólidas

NLSCS – Nanopartículas lipídicas sólidas revestidas com quitosano

PE – Fosfatiletanolamina

PEG – Polietilenoglicol

PF127 – Pluronic F127

PLGA - Ácido lácteo-co-glicólico

ROS - Espécies reativas de oxigénio

SGC-7901 – Linha de células de cancro do estômago

SIDA – Síndrome da imunodeficiência humana

SIRT-1 – Proteína sirtuína 1

SLN – Nanopartículas lipídicas sólidas

Tat – Proteína trans-ativadora transcricional

TGI - Trato Gastrointestinal



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. NANOTECNOLOGIA

### 1.1.1. ENQUADRAMENTO HISTÓRICO

Em 1959, foi a primeira vez que se introduziu o conceito que deu origem à nanotecnologia. Richard Feynman, um físico do California Institute of Technology, referiu num dos seus discursos a possibilidade de manipulação de materiais à escala de átomos e moléculas (Miyazaki e Islam, 2007). Algo que resultaria em componentes tão pequenos, que o Homem nem os poderia ver.

O termo nanotecnologia definido por Norio Taniguchi, investigador da University of Tokyo, começou a ser usado decorria o ano de 1974 (Sahoo, Parveen, e Panda, 2007). Considerando as raízes linguísticas a palavra nanotecnologia deriva do prefixo nano e é uma medida de grandeza usada na ciência para designar  $10^{-9}$  (Ochekpe, Olorunfemi, e Ndidi, 2009a).

A Figura 1 pretende por comparação dar uma perceção de quão pequenos são os objetos à escala nanométrica.

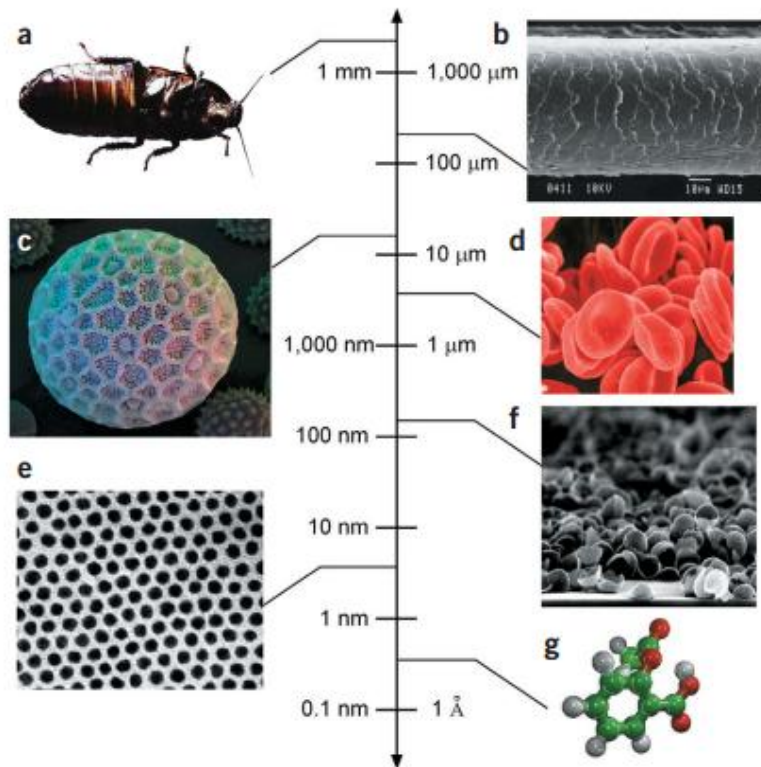


Figura 1- Escala comparativa de estruturas de pequenas dimensões. (a) Barata. (b) Fio de cabelo humano. (c) Grão de pólen de *Polygonum*. (d) Eritrócito. (f) Agregado de meias conchas de paládio. (e) Rede de nanocristais de cobalto. (g) Molécula de ácido acetilsalicílico. (Adaptado de Whitesides, 2003)

### 1.1.2. APLICAÇÕES PRÁTICAS

As aplicações da tecnologia na escala nanométrica estão, certamente, num estágio inicial. No entanto evidências do seu desenvolvimento, apontam-nas como dominantes nas próximas décadas. Tomando como referência as considerações feitas até aqui, denota-se a interdisciplinaridade que esta ciência moderna assume (Ochekpe et al., 2009a). A Tabela 1, resume as áreas da tecnologia onde já se explora a intervenção da nanotecnologia, bem como as suas aplicações.

Tabela 1: Áreas e aplicações da nanotecnologia (adaptado de Ochekpe et al., 2009)

ÁREAS	APLICAÇÕES
<p><b>NANOELETRÓNICA</b>                      Informática e computação</p> <p>Sensores</p>	<p>Nanofios em câmeras e computadores.                      Nanotubos em vez de raios catódicos em televisores.</p> <p>Os nanomateriais usados para avaliar a qualidade do solo e da água, e determinar o estado de plantas, alimentos e outros produtos.</p>
<p><b>NANOMATERIAIS</b>                      Materiais unidimensionais</p> <p>Materiais bidimensionais</p> <p>Materiais tridimensionais</p>	<p>Usadas em tecidos impermeáveis e electrónica.</p> <p>Os nanofios, como nanofios de silício para armazenamento de dados, electrónica.                      Os nanotubos de carbono para sensores, transmissão de corrente eléctrica e embalagem antiestática.</p> <p>Biopolímeros, como moléculas de DNA.                      As nanopartículas utilizadas em cosméticos, têxteis, tintas, catalisadores e sistemas de entrega de fármacos.                      Os fullerenos são materiais de carbono, que são utilizados como lubrificantes, veículos para fármacos e em circuitos eléctricos.</p>
<p><b>NANOBIOTECNOLOGIA</b>                      Bionano-sensores</p> <p>Estruturas biomiméticas</p> <p><b>Sistemas de libertação controlada de fármacos</b></p>	<p>Combinações de enzimas e chips de silício implantadas em seres humanos ou animais para monitorização e administração correta de doses dos fármacos.</p> <p>Diagnóstico de patologias, imagiologia molecular e sistemas de entrega de fármacos.</p> <p><b>Novas formulações de terapêuticas</b></p>

### 1.1.3. BENEFÍCIOS E RISCOS

A definição de nanotecnologia reveste-se de uma infinita multiplicidade que possibilita a sua aplicação a todos os setores. Desta forma, acarreta inúmeros benefícios, mas também há que considerar o potencial risco que lhe está associado. A sua segurança em humanos, animais e plantas e o efeito que tem sobre o meio ambiente são motivos de preocupação (Ochekpe et al., 2009a). A Tabela 2 expõe quer os benefícios, quer os riscos associados à nanotecnologia.

Tabela 2- Benefícios e riscos da nanotecnologia (adaptado de Ochekpe, Olorunfemi, e Ndidi, 2009b)

<b>BENEFÍCIOS</b>	<b>RISCOS</b>
Criação de novos produtos e melhoria de produtos já existentes	Aumento da toxicidade devido ao aumento da área de superfície
Aumento da disponibilidade e da resistência de materiais	Fabrico de armas químicas com mais potencial para matar
Criação de filtros que consigam reter microorganismos e toxinas	
Remoção de poluentes do ambiente	
Melhoria da saúde através do fabrico de dispositivos e sistemas de distribuição de fármacos, com o objetivo de melhorar o diagnóstico e o tratamento de doenças crónicas	

### 1.1.4. CARACTERÍSTICAS DA NANOVEICULAÇÃO NA PERSPETIVA FARMACÊUTICA

A ação terapêutica de um fármaco depende da concentração efetiva deste, no seu local de ação, durante um período de tempo desejável. Assim, a disponibilidade do fármaco a partir da forma farmacêutica assume um papel crítico na eficácia clínica de um medicamento (Kesarwani, Gupta e Mukerjee, 2013).

Os sistemas de libertação controlada de fármacos a esta escala, representam uma área relativamente nova e tem como objetivos prolongar e controlar a administração de fármacos de forma direcionada (Panyam e Labhasetwar, 2003). Estes sistemas descritos como “drug delivery systems” (DDS), oferecem inúmeras vantagens quando comparados com os sistemas convencionais.

Neste campo, são colocados alguns desafios à nanotecnologia, de forma a responder às necessidades acerca da biodisponibilidade, estabilidade *in vivo*, absorção

intestinal, entrega de fármacos direcionada para um alvo, flutuações de fármaco no plasma ou formas de minimizar os efeitos adversos (Ochekpe et al., 2009a).

A nanotecnologia devido ao desenvolvimento e produção de nanoestruturas apresenta possíveis propostas para ultrapassar estes obstáculos, possibilitando a adequada biodisponibilidade dos fármacos.

De acordo com a Fundação Europeia da Ciência, os “nanomedicamentos” são definidos como sistemas complexos numa escala de  $10^{-9}$ , que contém pelo menos dois componentes, um dos quais tem de ser o princípio ativo (Plapied, Duhem, des Rieux e Préat, 2011). Embora a nanotecnologia convencional utilize partículas entre 1 a 200 nm de diâmetro, o tamanho de partículas individuais testadas para entrega de fármacos como agentes terapêuticos pode variar de 1 a 1000 nm (Plapied et al., 2011).

Os materiais usados nessa produção determinam o tipo de nanoestruturas obtidas, com características próprias que garantem posteriormente diferentes vantagens e aplicações (Ochekpe et al., 2009b). As nanoestruturas com mais relevância nesta área, são os dendrímeros, as nanopartículas poliméricas, os lipossomas e as nanocápsulas. A tabela 3 descreve as principais características das nanoestruturas utilizadas em sistemas de libertação controlada de fármacos.

Tabela 3- Características das nanoestruturas utilizadas em sistema de liberação controlada de fármacos (adaptado de Ochekpe et al., 2009b)

NANOESTRUTURA (INÍCIO UTILIZAÇÃO)	DIMENSÕES (nm)	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	VANTAGENS	DESVANTAGENS
<b>LIPOSSOMAS</b>  (1974)	50 a 100	<b>Vesículas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• previnem degradação</li> <li>• reduzem efeitos secundários</li> <li>• direcionamento para o local de ação</li> <li>• sistemas transdérmicos que melhoram a permeabilidade de fármacos com elevada massa molecular e baixa absorção</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pouca eficiência de encapsulação</li> <li>• eliminação rápida de fármacos hidrossolúveis</li> <li>• baixa estabilidade quando na presença de componentes do sangue</li> </ul>
<b>NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS</b>  (1979)	10 a 1000	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>sólidos coloidais</b></li> <li>• <b>esféricas, ramificadas ou concavas</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• penetração capilar, aumentando concentração de fármaco no local de ação</li> <li>• liberação prolongada de fármacos</li> <li>• otimização da imunização</li> <li>• direcionamento de fármacos para o local de ação</li> </ul>	
<b>NANOCÁPSULAS</b>  (1984)	50 a 300	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ocas</b></li> <li>• <b>esféricas</b></li> <li>• <b>alta estabilidade</b></li> <li>• <b>baixa densidade</b></li> <li>• <b>dissolução de fármacos biofilicos</b></li> <li>• <b>absorção por fagócitos</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• melhora a biodisponibilidade oral de proteínas e péptidos, como a insulina e a calcitonina</li> <li>• proteção de fármacos suscetíveis de degradação</li> <li>• redução da toxicidade sistêmica</li> <li>• liberação controlada do fármaco</li> <li>• mascarar sabores desagradáveis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• baixa permeabilidade</li> </ul>
<b>DENDRÍMEROS</b>  (2001)	1 a 100  (<10)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>altamente ramificado</b></li> <li>• <b>estrutura globular</b></li> <li>• <b>solúveis em água</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aumento da solubilidade</li> <li>• aumento da permeabilidade</li> </ul>	

Ao longo dos últimos anos têm sido desenvolvidos novos sistemas de liberação controlada de fármacos, como descrito anteriormente, destinados a aumentar a biodisponibilidade de determinadas moléculas com interesse terapêutico de forma a serem usados com maior sucesso em diversas patologias (Mignet, Seguin e Chabot, 2013).

## 1.2. POLIFENÓIS

Uma classe de moléculas que tem sido associada a ação terapêutica em diversas patologias, têm sido os polifenóis.

Os polifenóis são compostos que estão presentes essencialmente nas frutas, legumes, cereais, leguminosas e chocolate (Pandey e Rizvi, 2009; Scalbert, Johnson e Saltmarsh, 2005; Scalbert, Manach, Morand, Rémésy e Jiménez, 2005; Spencer, Abd El Mohsen, Minihane e Mathers, 2008). Algumas frutas como as uvas, as maçãs, as cerejas e os frutos vermelhos contêm até 200-300mg de polifenóis por 100g de peso fresco (Pandey e Rizvi, 2009). Ingerimos 10 vezes mais estes compostos que Vitamina C (Scalbert, Johnson, et al., 2005).

Em finais do século passado começou a haver forte evidência científica, relacionando a ingestão de polifenóis a longo prazo com um efeito protetor em doenças (Figura 2) como cancro, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, asma, diabetes, osteoporose e no envelhecimento (Jain, Kharya, Gajbhiye, Sara e Sharma, 2010; Pandey e Rizvi, 2009; Scalbert, Manach, et al., 2005; Tsao, 2010).

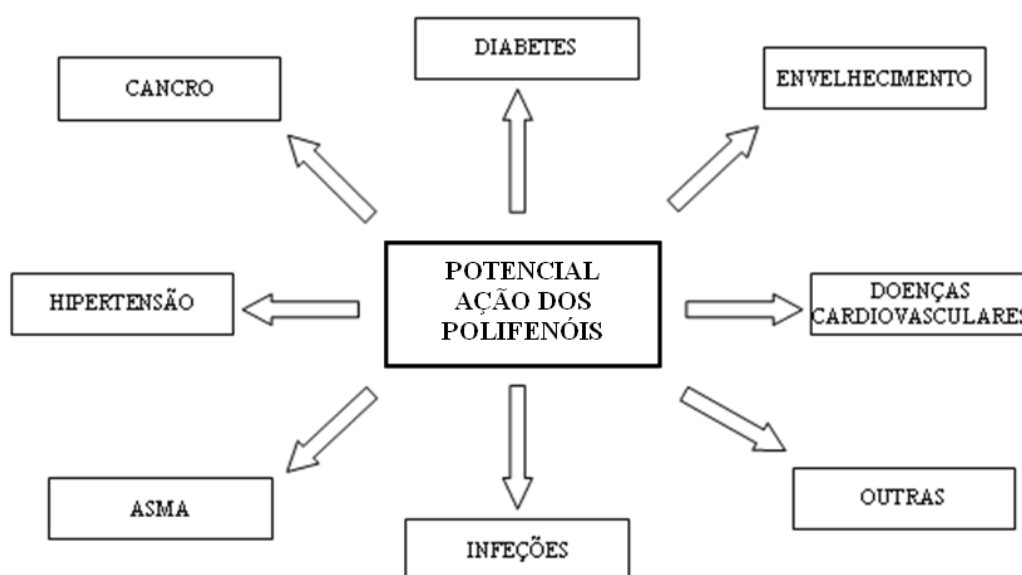
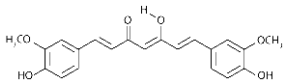
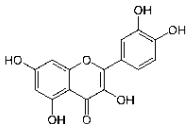
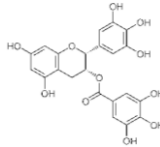
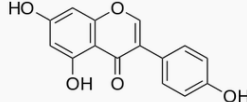
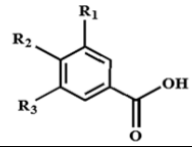
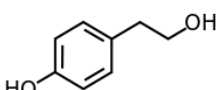
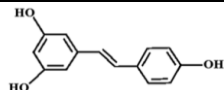
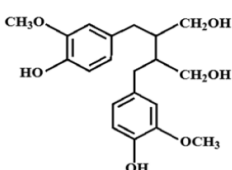


Figura 2- Potencial ação dos polifenóis em diferentes patologias (adaptado de Pandey e Rizvi, 2009)

Podem-se considerar várias classes de polifenóis (Tabela 4), os flavonóides e os não flavonóides, que englobam os ácidos fenólicos, os álcoois fenólicos, os estilbenos e as lignanas (Manach, Scalbert, Morand, Rémésy e Jime, 2004; Pandey e Rizvi, 2009; Weichselbaum e Buttriss, 2010).

Os polifenóis são classificados de acordo com o número de anéis de fenol que contêm e com os elementos que ligam estes anéis uns aos outros (Pandey e Rizvi, 2009).

Tabela 4 – Classes e estrutura química dos polifenóis (adaptado de (Manach et al., 2004; Weichselbaum e Buttriss, 2010)

CLASSE		ESTRUTURA QUÍMICA	EXEMPLOS
FLAVONÓIDES			Curcumina
			Quercetina
			Epigalo-catequina-3-galato (EGCG)
			Genisteína
NÃO FLAVONÓIDES	Ácidos fenólicos		Ácido gálico R1;R2;R3=OH
	Álcoois fenólicos		Tirosol
	Estilbenos		Resveratrol
	Lignananas		Secoisolariciresinol

Os polifenóis têm revelado efeitos benéficos em diversos ensaios clínicos que estudam diferentes patologias. Esta ação benéfica tem sido associada à sua capacidade antioxidante, cooperando desta forma com vitaminas e enzimas que possuem esta

função, no stress oxidativo das células causado pelo excesso de espécies reativas de oxigénio (ROS), como o superóxido e o peróxido de hidrogénio (Tsao, 2010).

Existem outros mecanismos possíveis para a ação antioxidante, além do anteriormente referido como, inibição da xantina oxidase, aumento dos antioxidantes endógenos, indução de enzimas antioxidantes (glutathione peroxidase, superóxido-dismutase, catálase) e inibição da expressão de enzimas, particularmente da xantina oxidase (Tsao, 2010).

Apesar destes compostos terem outras atividades, como exemplo, atividade anti-inflamatória, a propriedade que melhor esta descrita é a sua capacidade para atuar como antioxidante (Jain et al., 2010).

As propriedades antioxidantes destas moléculas tornam-nas potencialmente interessantes do ponto da sua aplicação terapêutica, no entanto a sua baixa biodisponibilidade compromete esta aplicação.

A nanoveiculação pelas vantagens descritas apresentam-se como uma formulação interessante para a aplicação farmacêutica dos polifenóis. Assim, esta monografia tem como objetivo principal tornar visível o estado da arte relativamente a esta temática, pretendendo-se fazer uma revisão bibliográfica das nanoformulações terapêuticas disponíveis e dos respetivos resultados de biodisponibilidade.

## 2. METODOLOGIA DE PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

A pesquisa para a dissertação do presente trabalho, foi realizada nas bases de dados eletrônicas (Google, PubMed, Science Direct, Dovepress, Informa Healthcare, National Institute of Health Public Access, American Scientific Publishers).

Na pesquisa, foram consideradas as seguintes palavras-chave: “nanotechnology”, “polyphenols”, “antioxidante”, “curcumin”, “catechins”, “resveratrol”, “quercetin”, “genistein”, “drug delivery systems”, “nanoparticles”, “encapsulation”, “liposomes”, “solid lipid nanoparticles”, “micelles”, “bioavailability”, “diseases”, “pathology”, “cancer”, “Alzheimer’s diseases”, “HIV”.

Ao iniciar a pesquisa na base de dados PubMed, com a palavra-chave “nanotechnology” existiam perto de 50 mil artigos, quando se especificou “nanotechnology drug” o número de artigos diminuiu substancialmente para perto de 9 mil artigos. Ao refinar a pesquisa usando a palavra-chave “nanotechnology drug delivery systems” só surgiram cerca de 5 mil artigos e quando a essa palavra-chave se adicionou a palavra “cancer”, surgiram pouco mais de mil artigos. Esta metodologia foi importante para dar percepção da importância do uso de “filtros” para se obter uma pesquisa mais específica e rápida.

Apesar da maioria das referências utilizadas na realização deste trabalho serem, artigos originais e artigos de revisão, também foram inseridas teses por demonstrarem relevância científica no tema desta monografia.

A avaliação dos artigos encontrados teve 3 fases: primeiramente pelo título onde foram considerados 117 artigos; numa segunda fase na qual os resumos foram alvo de análise, houve uma diminuição no número de artigos selecionados anteriormente; após avaliação dos resumos os artigos que pareciam preencher os critérios de inclusão foram lidos e analisados na íntegra. No final, apenas foram utilizados 88 artigos dos encontrados.



### 3. RESULTADOS

#### 3.1. ABORDAGEM TERAPÊUTICA DOS POLIFENÓIS EM SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

A nanotecnologia na área da medicina tem explorado novas formulações de forma a contornar as desvantagens das tecnologias convencionais e a síntese de novas partículas veiculadas por nanoestruturas, superando assim os problemas inerentes à sua baixa biodisponibilidade.

A maioria dos processos biológicos incluindo aqueles que estão relacionados com determinada patologia, como o cancro, ocorrem à escala  $10^{-9}$ , sendo pertinente a avaliação de nanotecnologias como potencial ferramenta na abordagem terapêutica destas doenças (Bharali et al., 2011).

O presente capítulo desta dissertação pretende evidenciar as possíveis aplicações e efeitos da nanoveiculação de polifenóis em doenças como cancro, Doença de Alzheimer (DA), inflamação vaginal e na infeção pelo HIV/SIDA.

##### 3.1.1. APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA NO CANCRO

###### 3.1.1.1. GENISTEÍNA

A genisteína é uma isoflavona derivada de soja. Este composto, que recentemente suscitou interesse na comunidade médica e científica, demonstra ser um potente agente quer profilático, quer terapêutico no cancro e noutras doenças crónicas (Kumar et al., 2011).

O grande interesse da genisteína concentra-se no efeito de indução da apoptose e inibição da proliferação de células tumorais, tornando a genisteína um agente inovador e promissor no tratamento do cancro (Ullah et al., 2011).

Experimentalmente, a genisteína tem demonstrado que possui atividade anticancerígena, contudo devido à sua baixa biodisponibilidade, esses efeitos a nível clínico podem não ser visíveis, acrescendo a necessidade de se desenvolverem novos sistemas de libertação prolongada de fármacos (Muqbil, Masood, Sarkar, Mohammad, e Azmi, 2011).

A incorporação da genisteína à escala nano em formulações lipídicas ou poliméricas protege este composto da degradação no trato gastrointestinal quando

administrado oralmente, aumentando assim a sua biodisponibilidade (Muqbil et al., 2011).

Um estudo baseou-se na comparação entre a genisteína livre e na ligação covalente da genisteína a nanopartículas de FeO<sub>4</sub> revestidas por um retículo de quitosano carboximetilado (CMCH), na proliferação e apoptose de linhas celulares de cancro do estômago (SGC-7901) (Muqbil et al., 2011).

Esse estudo mostrou que a nanoconjugação da genisteína com o ião ferrato (FeO<sub>4</sub>) e CMCH, conduziu a uma maior inibição das células SGC-7901 que a genisteína livre, o que suscita maior interesse por parte dos cientistas no desenvolvimento destes novos sistemas de entrega de fármacos (Si et al., 2010).

### 3.1.1.2. CURCUMINA

A curcumina é um polifenol presente no açafrão da Índia, com potencial atividade anticancerígena, causando apoptose e suprimindo a proliferação de uma grande variedade de células tumorais, para além de estar associada à atividade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (Bharali et al., 2011).

Em contrapartida, da mesma forma que outras moléculas, apresenta características que fazem com que a sua ação terapêutica não seja totalmente eficaz. A baixa solubilidade, a absorção diminuída, o rápido metabolismo e rápida eliminação sistémica são as principais razões que contribuem para a baixa biodisponibilidade (Mohanty, Das, e Sahoo, 2012).

De forma a mitigar estas limitações, estão a ser recentemente desenvolvidos sistemas tendo por base nanoestruturas como evidenciado nos estudos de seguida descritos.

Um estudo demonstrou que quando encapsulada, numa nanoformulação com alginato (ALG), quitosano (CS) e pluronic F127 (PF127), a curcumina tem maior potencial terapêutico nas células cancerígenas. À matriz ALG-CS juntou-se PF127 para auxiliar no encapsulamento e dispersão do fármaco, uma vez que estas moléculas são de natureza hidrofílica o que dificultava a solubilidade da curcumina que é altamente hidrofóbica (Das, Kasoju, e Bora, 2010).

Noutro estudo, a curcumina foi incorporada em lipossomas para avaliar a sua atividade anti-proliferativa em células de cancro da próstata humana. O tratamento das células com esta nanoformulação resultou em 70-80% de inibição da proliferação celular, valor superior ao estimado quando usada a curcumina livre (Thangapazham, R.,

Puri, A., Tele, S., Blumenthal, R., Maheshwari, 2008). Os resultados demonstrados fornecem forte evidência de que os lipossomas, como veículos de entrega de fármacos, são eficazes aumentando a biodisponibilidade da curcumina.

Nos três estudos destacados evidencia-se um efeito positivo destes novos DDS, que coadjuvam na superação das características que levam ao insucesso da terapêutica.

Num estudo, foi desenvolvido um de libertação controlada composto por curcumina, lipossomas, ácido fólico, ácido lácteo-co-glicólico (PLGA) e PEG (F-CUR-L-PLGA-PEG) para atuar numa linha de células cancerígenas. A CUR parece ter uma ação inibitória sobre o fator nuclear  $\kappa$  que ativa as células B (NF- $\kappa$ B) – proteína envolvida na transcrição do DNA, capaz de suprimir o crescimento do cancro do pulmão *in vitro* e *in vivo* (Yao Lu et al., 2012).

De modo a aumentar a solubilidade da curcumina encapsulada no lipossoma, adicionou-se ácido fólico; o PLGA e do PEG cooperaram neste complexo como potenciadores da absorção celular, aumentando a atividade *in vivo* em comparação com a CUR livre (Anand et al., 2010).

Curiosamente, os recetores do ácido fólico exibem uma expressão limitada na maioria dos tecidos normais, no entanto em tecidos tumorais a sua expressão é potenciada (Yingjuan Lu e Low, 2002),

A adição de ácido fólico nas extremidades das moléculas de PEG complexadas com os lipossomas, permite direcionar a curcumina para as células tumorais (Yingjuan Lu e Low, 2002).

Os autores escolheram o ácido fólico, em vez de um anticorpo ou de uma proteína, para modificar estes lipossomas devido ao seu baixo peso molecular, que lhe proporciona maior estabilidade que as proteínas que têm maior peso e por os recetores do ácido fólico terem uma maior expressão em vários tipos de cancros relativamente aos anticorpos que são mais limitados a determinados cancros (Yao Lu et al., 2012).

Os ensaios demonstraram que este DDS aumentou a solubilidade e estabilidade da curcumina, induzindo uma maior inibição da proteína NF- $\kappa$ B e um aumento da especificidade para as células tumorais.

Num outro estudo, foi investigada a eficácia anticancerígena da curcumina formulada em lipossomas, em estudos *in vivo* e *in vitro*, em células cancerígenas do pâncreas (Li, Braith, e Kurzrock, 2005).

A curcumina foi encapsulada num sistema lipossomal para administração intravenosa. Foram estudados os efeitos deste polifenol na proliferação, apoptose, sinalização e na angiogénese.

*In vitro*, a atividade da curcumina lipossomal foi equivalente ou superior comparativamente à curcumina livre, em concentrações equimolares.

*In vivo*, foi demonstrado que a curcumina lipossomal inibiu o crescimento do cancro hepático, bem como os efeitos anti-angiogénese.

Ao comparar o efeito da curcumina lipossomal nos ratos utilizados na experiência, com os ratos modelos que não foram sujeitos a este tratamento, nos primeiros, houve um aumento da biodisponibilidade (Li et al., 2005).

Os autores concluíram que a curcumina lipossomal inibe o mecanismo do fator NF-kB, suprimindo o crescimento do tumor e potenciando a apoptose das células pancreáticas.

A atividade anticancerígena deste tipo de formulações foi também avaliada no cancro do cólon.

Um estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da curcumina em lipossomas quando acoplada à Oxaliplatina, um fármaco quimioterapêutico que contém platina, utilizado com 5-fluorouracilo e no cancro do cólon (Li, Ahmed, Mehta, e Kurzrock, 2007).

*In vitro*, os autores, observaram um efeito sinérgico entre a curcumina e a oxaliplatina.

*In vivo*, os resultados mostraram uma inibição significativa no crescimento do tumor, demonstrando também, sinergismo entre a curcumina lipossomal e a oxaliplatina, conferindo assim maior eficácia na terapêutica (Li et al., 2007).

Desta forma, foi possível estabelecer uma comparação da inibição do crescimento e da apoptose da curcumina lipossomal com a oxaliplatina no cancro do cólon, sendo mais uma vez evidenciado os benefícios dos sistemas de libertação controlada de fármacos.

### 3.1.1.3. QUERCETINA

A quercetina é um flavonóide presente na dieta que pode ser encontrado em maçãs, brócolos, chá e vinho tinto (Thilakarathna e Rupasinghe, 2013).

A quercetina possui as características terapêuticas próprias da classe, mas a atividade anticancerígena é a que mais tem sido estudada, uma vez que esta molécula é

capaz de inibir alvos importantes das células cancerígenas como a proliferação das células e formação de metástases (Gupta, Subash C., Kim, J., Prasad, S., Aggarwal, 2010). A quercetina como inibidor da tirosina quinase tem a capacidade de modelar diversas vias de sinalização que têm implicações consideráveis nos valores terapêuticos e profiláticos no cancro (Tan, B., Liu, Y., Chang, K., Lim, B., Chiu, 2012).

A baixa solubilidade em água e má absorção apresentam-se como um entrave, comprometendo a ação efetiva da quercetina (Tan, B., Liu, Y., Chang, K., Lim, B., Chiu, 2012). Estratégias com recurso à nanotecnologia têm sido estudadas, de modo a tirar melhor partido destas propriedades, por aumento da biodisponibilidade da quercetina (Leonarduzzi, Testa, Sottero, Gamba, e Poli, 2010).

A maioria dos tratamentos de quimioterapia usam a via intravenosa como principal via de administração, o que por vezes não se torna confortável para o doente, que em opção preferiam a via oral se fosse possível. Posto isto, cresceu a necessidade de se desenvolverem nanoveículos para entrega de quercetina para uso quimioterapêutico por via oral (Leonarduzzi et al., 2010).

Com esse intuito foi desenvolvido um estudo para avaliar a atividade anticancerígena na quercetina em células de cancro do pulmão, adicionando polietilenoglicol (PEG) e fosfatiletanolamina (PE) a um sistema micelar (Figura 3) de DDS, sendo a eficácia comparada com uma suspensão oral de quercetina livre (Tan, B., Liu, Y., Chang, K., Lim, B., Chiu, 2012).

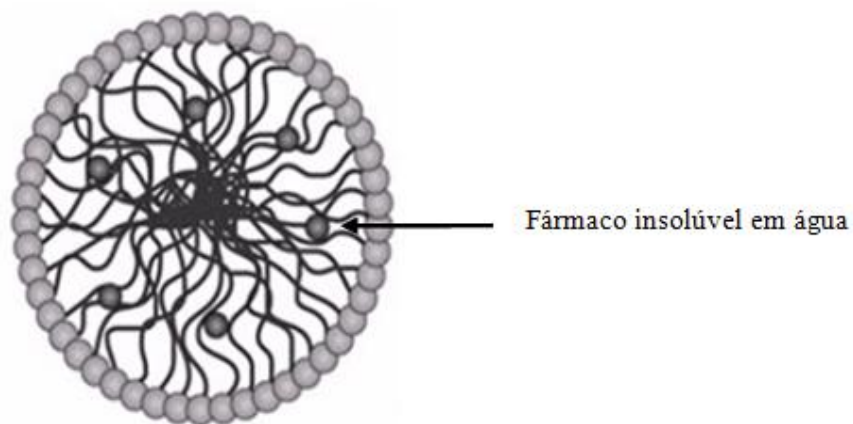


Figura 3- Modelo de micela para transporte de fármacos insolúveis em água (adaptado de (Muqbil et al., 2011)

Este estudo revelou que a formulação nanomicelar em estudo (quercetina-PEG-PE) pode aumentar a atividade anticancerígena da quercetina por várias razões como ilustra a Figura 4.

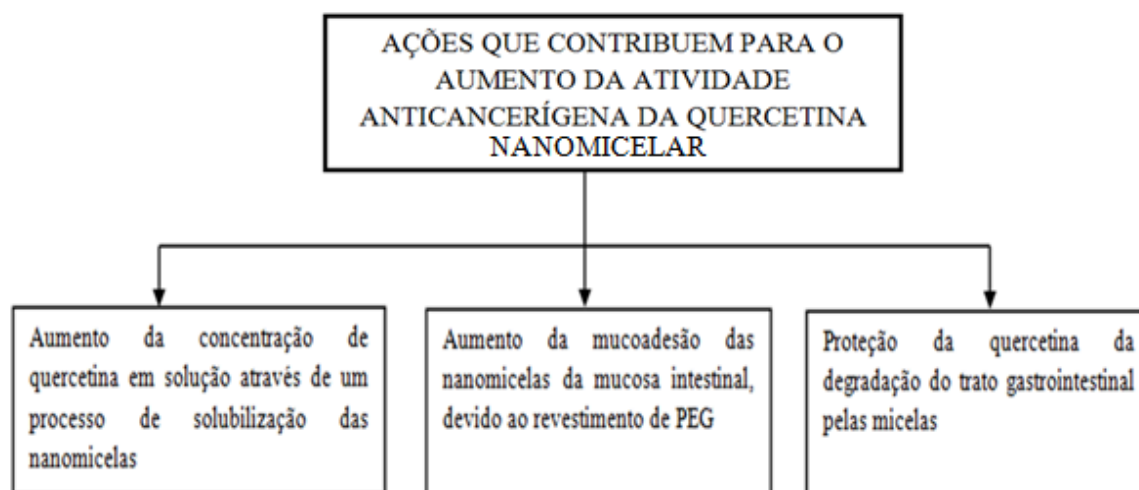


Figura 4- Vantagens da formulação nanomicelar na atividade anticancerígena da quercetina (adaptado de Tan, 2012)

#### 3.1.1.4. CATEQUINAS

As catequinas são polifenóis estudados no tratamento de várias doenças e encontram-se presentes em abundância no chá verde (Nagarajan et al., 2008).

Apesar do amplo espectro de propriedades biológicas das catequinas, a sua utilização efetiva é limitada uma vez que apresenta fraca solubilidade aquosa, pouca estabilidade e baixa biodisponibilidade devida à deficiente absorção e à rápida eliminação sistêmica (Z. Fang e Bhandari, 2010; Peres et al., 2011; Volf, Ignat, Neamtu, e Popa, 2013).

Para tirar máximo partido destes agentes terapêuticos, há necessidade de superar as limitações observadas com catequinas livres, por exemplo, através da sua encapsulação lipossomal (Tronnes, 2012).

Estudos que envolveram lipossomas DDS de catequinas por via oral para efeito a nível cerebral, mostraram um aumento significativo da concentração plasmática e uma maior acumulação da catequina em certas áreas do cérebro, em comparação com a catequina livre (Huang et al., 2011).

Num estudo a epigalo-catequina-3-galato (EGCG) encapsulada em lipossomas também demonstrou maior eficácia relativamente à forma livre, demonstrando um aumento da concentração da EGCG e de morte nas células de carcinoma baso-celular, devido à capacidade dos lipossomas manterem a estabilidade da ECGC (J.-Y. Fang, Lee, Shen, e Huang, 2006).

Noutro estudo desenvolveu-se uma nanoformulação de ECGC por encapsulação com nanopartículas de quitosano. As nanopartículas de quitosano têm propriedades muco-adesivas, aderem durante mais tempo ao trato gastrointestinal (TGI), o que proporciona uma libertação prolongada de fármaco (Khan, N. Bharali, 2013; Siddiqui et al., 2014).

Neste estudo observou-se que numa única administração oral desta nanoformulação houve uma maior inibição do crescimento das células do melanoma por indução da apoptose, relativamente à formulação com a molécula de ECGC livre (Siddiqui et al., 2014). O que sugere que esta nanoformulação é eficaz no cancro, tendo a grande vantagem de poder ser administrada oralmente com muito boa biodisponibilidade.

#### 3.1.1.5. RESVERATROL

O resveratrol é um composto natural pertencente aos polifenóis, particularmente à classe dos não flavonóides presente em uvas, amoras, mirtilo, vinho tinto, amendoins entre outros alimentos pertencentes à nossa dieta (de la Lastra e Villegas, 2005; Fremont, 2000).

O resveratrol tem os isómeros *cis* e *trans*, no entanto só o *trans*-resveratrol é que é farmacologicamente ativo e é muito mais estável do que o *cis*-resveratrol (Aggarwal, Bhardwaj, e Aggarwal, 2004).

Este composto está associado a muitas propriedades terapêuticas, nomeadamente anti-inflamatória, anticancerígena, antiviral, antiartrítica e as propriedades antioxidantes (Heredia, A., Davis, C., Redfield, 2000; Touzet e Philips, 2010).

No entanto, a aplicação terapêutica do resveratrol permanece muito limitada devido à curta semivida, rápido metabolismo, recirculação êntero-hepática e excreção maioritariamente renal, o que conduz a uma baixa biodisponibilidade (Marier et al., 2002).

Estudos em animais e humanos indicaram baixa biodisponibilidade do resveratrol, não permitindo obter uma concentração adequada capaz de ter atividade anticancerígena (Blasi, Giovagnoli, Schoubben, Ricci, e Rossi, 2007; Joshi e Müller, 2009).

Consequentemente, têm sido desenvolvidos novos sistemas de entrega de fármacos baseados em nanopartículas que melhorem as características deste composto

(Cadena et al., 2013; Neves, Lúcio, Martins, Luís, e Lima, 2013; Sanna, V., Siddiqui, I., Sechi, M., Mukhtar, 2014).

A Figura 5 ilustra os mecanismos propostos para o resveratrol a seguir à sua administração oral na forma livre, bem como na sua forma nanoestruturada (Singh e Pai, 2014)

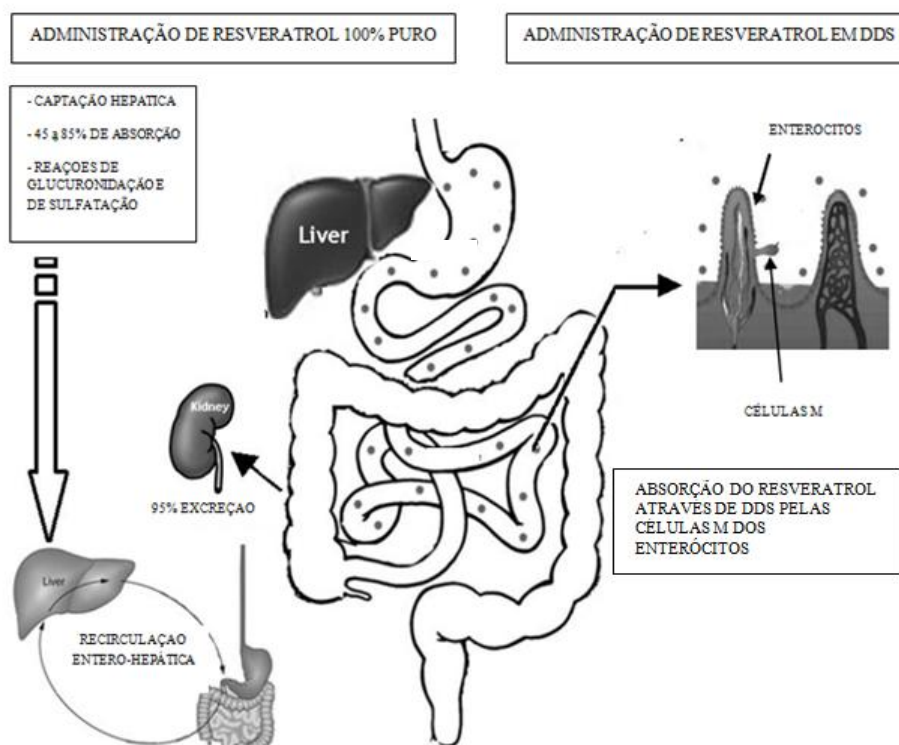


Figura 5- Proposta de percurso e interações do resveratrol quando administrado por via oral na forma livre e em sistemas de liberação controlada (adaptado de Singh e Pai, 2014)

Nesta área da nanotecnologia aplicada às ciências farmacêuticas, o resveratrol parece ser um dos polifenóis com mais estudos científicos.

Um estudo teve por objetivo determinar os efeitos antiproliferativos da nanoencapsulação do resveratrol em células de cancro do cólon. A hipótese que se colocou, foi que o resveratrol nanoencapsulado tem um efeito superior nas células de cancro de cólon do que o resveratrol não encapsulado. O estudo proposto utilizou células HT-29, para determinar os efeitos do resveratrol sobre o crescimento de células de cancro.

A proliferação foi testada em células tratadas com resveratrol não encapsulado, resveratrol em nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) e resveratrol encapsulado em nanopartículas lipídicas sólidas revestidas com quitosano (NLSCS) (Figura 6).

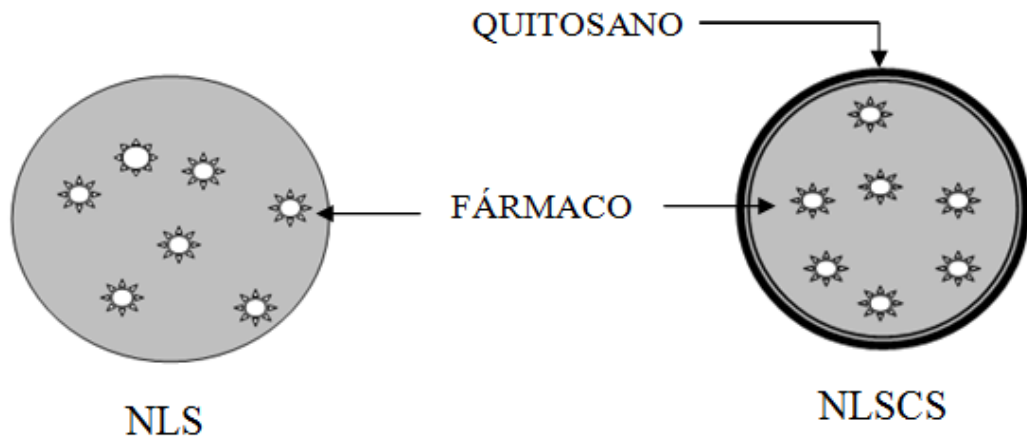


Figura 6- Representação esquemática de nanopartículas lipídicas sólidas e de nanopartículas lipídicas sólidas revestidas com quitosano

Os autores do estudo concluíram que o resveratrol não encapsulado desencadeou uma maior diminuição da viabilidade das células HT-29, do que o resveratrol encapsulado em NLS e/ou em NLSCS. No entanto, observaram que quando o fármaco estava conjugado com um dos dois nanotransportadores utilizados, existia um aumento da solubilidade e uma liberação prolongada do fármaco que conduziu a uma maior biodisponibilidade e também a um aumento da estabilidade (Alomrani, 2014).

Os resultados a que os autores chegaram não foram os expectáveis. Esperava-se que quando conjugado com nanotransportadores, o resveratrol aumentasse a apoptose.

Uma das causas que pode ter estado na origem destes resultados poderá ter a ver com os métodos utilizados, sugerindo que devia haver um novo desenho de estudo .

O transportador utilizado tinha núcleo hidrofóbico, constituído quer por lípidos sólidos, quer por líquidos permitindo a acumulação de uma grande quantidade de fármaco (Of e Ancer, 2014).

Os lipossomas poderão ser uma alternativa, uma vez que possuem bicamada lipídica a constituir a membrana e têm núcleos aquosos (Of e Ancer, 2014). Todas as características envolvidas no transporte de sistemas tendo por base nanoestruturas têm de ser corretamente validadas para que os resultados sejam de acordo com as expectativas.

Nos últimos 10 anos, novos sistemas baseados em nanopartículas lipídicas têm tido enfase uma vez que permitem que o resveratrol ultrapasse a barreira hemato-

encefálica (BHE), tornando-o num potencial fármaco nesta patologia (Felice et al., 2013; Guo et al., 2013).

As NLS são partículas coloidais compostas por uma matriz de lípidos, biocompatível e biodegradável, que são sólidos à temperatura corporal, exibem tamanho entre 100 e 400 nm (Severino et al., 2014) e apresentam uma superfície lisa e esférica (Figura 7).

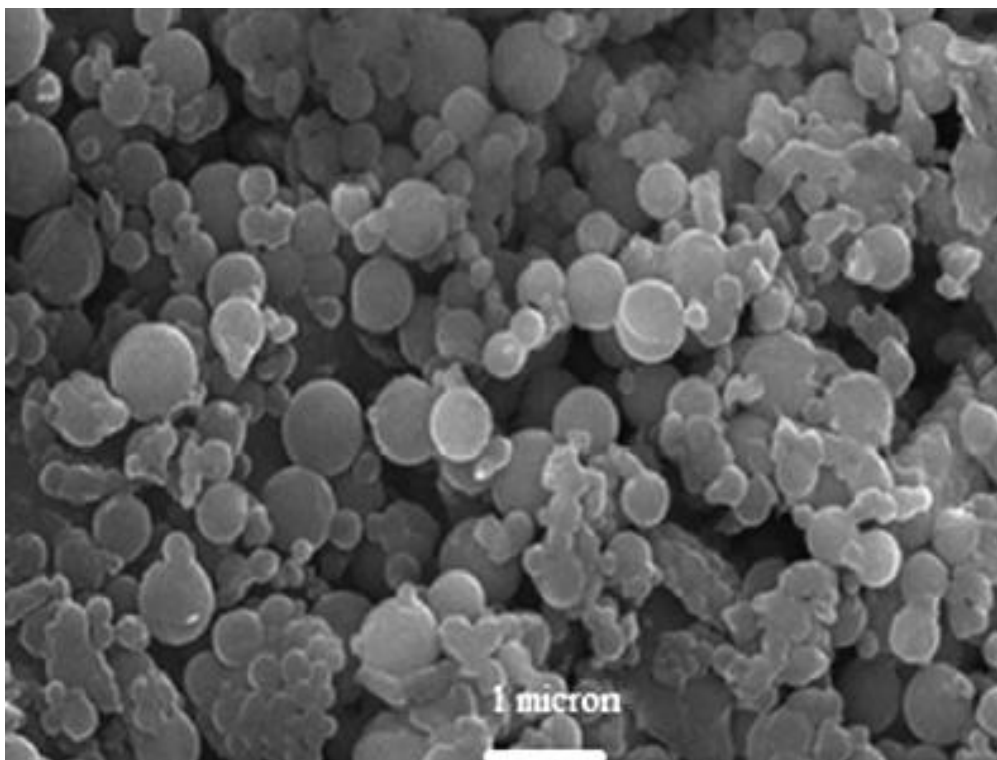


Figura 7- Imagem morfológica das nanopartículas lipídicas solidas revelada por microscopia eletrônica de varrimento (adaptado de Jose et al., 2014)

Este sistema apresenta-se como alternativa aos sistemas poliméricos uma vez que são biocompatíveis e biodegradáveis e conseqüentemente menos tóxicos (Doktorovova, Souto, e Silva, 2014; Doktorovová et al., 2014).

Um estudo teve por objetivo investigar a capacidade do resveratrol atingir o cérebro, num sistema de NLS (Jose et al., 2014).

Quando administrado o sistema de NLS com resveratrol, verificou-se uma elevada acumulação no tecido cerebral, o que sugere que estes nanotransportadores podem ser úteis na veiculação de resveratrol ao cérebro (Jose et al., 2014).

Estes nanotransportadores lípicos são promissores como potencial agente terapêutico no cancro cerebral, aumentando a eficiência da entrega do resveratrol no local de ação, diminuindo a quantidade necessária para ter efeito terapêutico e minimizando os efeitos adversos (em comparação com o fármaco livre) (Jose et al., 2014).

### 3.1.2. APLICAÇÕES DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA NA DOENÇA DE ALZHEIMER

Embora uma grande parte de estudos relacionados com polifenóis seja acerca da sua atividade no cancro, também existem estudos relacionados com outras patologias. Ao que parece, a quercetina tem demonstrado ser importante no processo inflamatório que ocorre nos doentes com Doença de Alzheimer (DA) (Testa et al., 2014).

A DA é uma desordem neurodegenerativa progressiva, que demonstra evidências de eventos inflamatórios crónicos que desempenham um papel fundamental nesta patologia (Cummings, Morstorf, e Zhong, 2014). A inflamação crónica presente contribui para a progressão das alterações neuropatológicas, resultando na disfunção neuronal e morte destas células (Wyss-Coray, T., Rogers e Rogers, 2012).

Mesmo que a inflamação se encontre num estadio inicial, os sintomas comportamentais e o avanço da doença são agravados, devido ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas locais (Testa et al., 2014).

Os efeitos prejudiciais dos mediadores pró-inflamatórios surgem aquando da entrada destes agentes no cérebro juntamente com leucócitos, como consequência da permeabilidade da BHE (Leoni et al., 2003).

No entanto, ainda não está claro se a inflamação é uma causa ou uma consequência da DA (Weitz e Town, 2012).

Ao avaliar as estratégias terapêuticas existentes para controlar a inflamação cerebral na progressão da DA, os polifenóis foram recentemente propostos como potenciais agentes terapêuticos (Testa et al., 2014).

Na família dos polifenóis a quercetina parece ser o composto mais promissor, devido à sua distinta capacidade de intervir na resposta inflamatória (Manuscript, 2009)

Contudo, tal como em outros polifenóis descritos anteriormente, houve a necessidade de se desenvolverem novos sistemas de transporte, nomeadamente sistemas apoiados em nanopartículas acoplados à quercetina, para aumentar a sua

biodisponibilidade, sendo assim mais fácil a entrada desta molécula no cérebro (Testa et al., 2014).

Um estudo que comparou a atividade anti-inflamatória da quercetina conjugada com nanopartículas, com a atividade da quercetina livre evidenciou que houve uma maior eficácia na quercetina conjugada na neuroinflamação (Testa et al., 2014).

Este sistema de entrega de fármacos parece ser uma nova abordagem, com potencial terapêutico, aumentando os efeitos neuroprotetores da quercetina, uma vez que consegue melhorar a permeabilidade através da BHE, atingindo as células alvo com uma maior biodisponibilidade (Testa et al., 2014).

### 3.1.3. APLICAÇÕES DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA EM VERRUGAS VAGINAIS/INFLAMAÇÃO VAGINAL

Foi desenvolvido um projeto tendo por base DDS de lipossomas, contendo ECGC, de forma a ultrapassar as limitações apresentadas por estes dois compostos. A formulação desenvolvida destinou-se ao tratamento de verrugas genitais /inflamação vaginal (Tronnes, 2012). Os lipossomas transportadores dos fármacos, foram incorporados num hidrogel de quitosano para que a aplicação se aproxima-se o mais possível de uma aplicação *in vivo*, para obter a viscosidade adequada da formulação e uma libertação prolongada (Tronnes, 2012).

Neste projeto evidenciou-se a atividade anti-inflamatória da ECGC, obteve-se um perfil de estabilidade satisfatório, as vesículas das formulações tinham tamanho apropriado para a administração tópica e os testes *in vitro* apontaram para uma libertação sustentada de ECGC, quer em pH fisiológico como em pH vaginal (Tronnes, 2012).

Os autores concluíram que o encapsulamento da ECGC em lipossomas e sua posterior incorporação em hidrogel oferece potencialidades para o desenvolvimento de novos sistemas de libertação prolongada de fármacos para o tratamento vaginal com catequinas.

### 3.1.4. APLICAÇÕES DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA EM FERIDAS CUTÂNEAS

Recentemente, os agentes antioxidantes começaram a despertar curiosidade na aplicação de feridas cutâneas. Uma das grandes preocupações reside no facto das múltiplas complicações que uma cicatrização deficiente pode acarretar (Leu et al., 2012).

A ECGC parece ter um papel importante na cicatrização de feridas, conferido pela sua atividade como antioxidante (Kim et al., 2008).

Num estudo foi avaliada a eficácia na cicatrização de feridas, quando aplicada topicamente uma nanoformulação com ECGC (Leu et al., 2012).

As nanopartículas de ECGC comprovaram acelerar significativamente o processo de cicatrização de feridas, uma vez que foi potenciada a atividade da ECGC na indução da diferenciação e do crescimento de miofibroblastos (Klass, Branford, Grobbelaar, e Rolfe, 2010).

### 3.1.5. APLICAÇÕES DE SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA NO HIV/SIDA

Estudos sugerem que o resveratrol pode ser um potencial candidato na prevenção e do VIH / SIDA e na terapêutica de forma sinérgica com os antirretrovirais (Singh e Pai, 2014).

Recentemente têm sido desenvolvidos sistemas nanoestruturados baseados em nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas e nanoemulsões para aumentar a biodisponibilidade e eficácia terapêutica de resveratrol, de forma a ser aplicado, quer a nível preventivo, quer terapêutico nesta doença que em pleno século XXI continua incontrolável.

A ocorrência de resistências na terapêutica antirretroviral e a não adesão por parte dos doentes são as justificações mais evidentes para o insucesso da terapêutica do HIV/SIDA.

Resveratrol é um potencial agente terapêutico no HIV / SIDA, uma vez que pode reativar a proteína sirtuína-1 (SIRT 1) (quando há infeção por HIV esta proteína está bloqueada, logo não inibe a proteína trans-ativadora transcricional (Tat) que vai bloquear a proteína Tat que é responsável por ativar outras proteínas envolvidas na replicação do vírus. Na verdade, o resveratrol tem a capacidade de inverter alterações induzidas pelo vírus (Lin, Li, e Fang, 2014). Outro mecanismo no resveratrol, relaciona-

se com o aumento da produção de enzimas que ativam alguns fármacos análogos nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa, como a didanosina (Lin et al., 2014).

Atualmente decorrem investigações que pretendem avaliar a eficácia terapêutica do resveratrol (particularmente em nanoestruturas de forma a ultrapassar as desvantagens do resveratrol), no tratamento de HIV /SIDA, demonstrando a importância da ativação da proteína SIRT na limitação da replicação do vírus (Singh e Pai, 2014).

Do exposto, é visível que já existe um número significativo de estudos que exploram a nanoveiculação de polifenóis com diferentes ações terapêuticas e que se encontram sintetizados na Tabela 5.

Tabela 5- Estudos de incorporação da curcumina em sistemas de liberação controlada.

REFERÊNCIA	TIPO DE FORMULAÇÃO	INTERVENÇÃO	OBJETIVO	PRINCIPAIS RESULTADOS
(Narayanan, Nargi, Randolph, e Narayanan, 2009)	Lipossomas com curcumina em combinação com resveratrol no cancro da próstata	Incorporação de lipossomas contendo curcumina e resveratrol em ratos	Verificar se houve aumento significativo da apoptose e bloqueio na progressão do tumor	<ul style="list-style-type: none"> <li>Boa eficácia na encapsulação da curcumina e do resveratrol nos lipossomas;</li> <li>Diminuição significativa da incidência do cancro da próstata</li> </ul>
(Suwannateep et al., 2012)	Encapsulação da curcumina em nanoesferas foto-estáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Encapsulação em acetato de celulose e/ou metil-celulose;</li> <li>Exposição aos raios UVB</li> </ul>	Verificar se houve diminuição de radicais livres após exposição aos raios UVB	<ul style="list-style-type: none"> <li>Proteção da curcumina por nanoesferas;</li> <li>Degradação da curcumina livre;</li> <li>Diminuição de radicais livres na loção que tinha as nanoesferas de curcumina</li> </ul>
(Rachmawati, Budiputra, e Mauludin, 2014)	Nanoemulsão de curcumina para aplicação transdérmica	<ul style="list-style-type: none"> <li>Incorporação da curcumina nanoglobulos por nanoemulsificação</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Melhorar a estabilidade;</li> <li>Melhorar a permeabilidade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aumento da estabilidade, por proteção contra a degradação química;</li> <li>Aumento da permeabilidade</li> </ul>
(Mangalathillam et al., 2012)	Encapsulação de curcumina em nanogeles com quitina no melanoma através da via transdérmica	<ul style="list-style-type: none"> <li>Incorporação da curcumina em nanogeles com quitina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Capacidade de promover apoptose nas células cancerígenas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>0,1mg e 1mg demonstraram toxicidade sobre as células do melanoma;</li> <li>Menor toxicidade em células dos fibroblastos dérmicos</li> </ul>
(Iu e Hang, 2011)	Microemulsões de eucaliptol para entrega da curcumina por via tópica	Microemulsões contendo como veículos da curcumina: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Eucaliptol</li> <li>- Polissorbato 80</li> <li>- Etanol</li> <li>- H<sub>2</sub>O</li> </ul>	Verificar qual o componente ótimo como veículo na entrega da curcumina via tópica	A taxa de permeabilidade da curcumina aumentou 15,7 vezes quando usado o eucaliptol como veículo

Continuação da tabela 5 - de incorporação da curcumina em sistemas de libertação controlada.

REFERÊNCIA	TIPO DE FORMULAÇÃO	INTERVENÇÃO	OBJETIVO	PRINCIPAIS RESULTADOS
(Samim, Naqvi, Arora, Ahmad, e Maitra, 2011)	Encapsulação polimérica da curcumina na Leishmaniose	Encapsulação da curcumina	Desenvolver um sistema de encapsulação polimérica da curcumina que seja: - eficaz no tratamento da Leishmaniose; - ausente de toxicidade; - biodegradável	Maior eficácia terapêutica <i>in vivo</i> com a curcumina encapsulada, comparativamente com os resultados da terapêutica com pentamidina ou com curcumina livre
(Cheng et al., 2013)	Incorporação de curcumina em micelas na doença de Alzheimer	Avaliação da memória antes e após o estudo;  Administração de 23mg/kg/semana durante 3 meses	Verificar se houve aumento da biodisponibilidade da curcumina a nível cerebral, por haver maior permeabilidade da BHE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento da biodisponibilidade cerebral da curcumina;</li> <li>• Melhoras na memória após avaliação pelos testes: - Teste do labirinto; - Teste condicionalmente contextual ao medo.</li> </ul>
(Gong et al., 2013)	Incorporação de curcumina em micelas com hidrogel na cicatrização de feridas	Administração de 1mg de curcumina no sistema micelar durante sete dias	Verificar como ocorreu o processo de cicatrização	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maior conteúdo de colagénio;</li> <li>• Maior rapidez no processo de cicatrização.</li> </ul>
(Cui, Chen, e Wang, 2012)	Nanopartículas lipídicas solidas com curcumina	Administração de 10mg/kg/dia durante sete dias	Verificar a influência da curcumina nos medidores inflamatórios da asma	Diminuição dos níveis da interleucina-4 (IL-4) e interleucina- 13(IL-13)
(Akhtar, Alam, e Kumar, 2012)	Incorporação de curcumina em nanopartículas de quitosano	Administração de 33mg/kg/dia durante sete dias, após três dias a induzir a infeção	Verificar a ação da curcumina na infeção pelo <i>Plasmodium yoelli</i>	Cura da infeção
(Bu et al., 2013)	Nanopartículas de <i>trans</i> -resveratrol revestidas com quitosano	Sistema de nanopartículas contendo <i>trans</i> -resveratrol ligados com biotina e avidina	Avaliar o direcionamento das nanopartículas para as células cancerígenas no cancro do fígado, em detrimento das células normais	Nanopartículas com <i>trans</i> -resveratrol direcionaram-se para as células cancerígenas
(Hung, C., Chen, J., Liao, M.H., Lo, H.M., Fabg, 2006)	Encapsulação lipossomal de uma emulsão contendo resveratrol	Indução de uma lesão na artéria carótida em ratos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliação da libertação controlada de resveratrol no lipossoma contendo a emulsão</li> <li>• Verificar a proteção cardíaca do resveratrol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inibição do espessamento do endotélio;</li> <li>• Encapsulação do resveratrol nesta nanofórmula manifestou ter efeitos preventivos e terapêuticos</li> </ul>

### 3.2. ENSAIOS CLÍNICOS

As propriedades destes compostos naturais têm sido relatadas tanto em *in vitro* e *in vivo* e atualmente já se encontram alguns ensaios clínicos que evidenciam a atividade benéfica de polifenóis nanoveiculados no organismo.

O polifenol que mais se destaca nos ensaios clínicos nos últimos anos tem sido o resveratrol.

Embora nos últimos anos o resveratrol tenha adquirido maior interesse, ainda existem poucos estudos em humanos a evidenciar as suas propriedades terapêuticas. A tabela 6 apresenta um resumo de alguns ensaios clínicos e os principais resultados a que se chegaram.

Tabela 6- Ensaios clínicos que estudam a ação terapêutica do resveratrol.

REFERÊNCIA	AMOSTRA	DOSE DE RESVERATROL	INTERVENÇÃO	PRINCIPAIS RESULTADOS
(Goldberg, Yan, e Soleas, 2003)	12 indivíduos saudáveis	25mg por 70kg de peso corporal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ingestão de RESV através da ingestão de vinho, sumo de uva e sumo de vegetais;</li> <li>• colheitas de sangue às 0, 1, 2, 3 e 4h;</li> <li>• colheita de urina das 24h;</li> <li>• a medição do resveratrol em ambas as amostras, utilizou o método de cromatografia gasosa</li> </ul>	70% da absorção do RESV foi a nível intestinal
(Boocock et al., 2007)	10 indivíduos saudáveis	0, 5, 1, 2 ou 5g	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 administrações, da dose mais baixa para a mais alta, com 14 dias de intervalo entre cada dosagem;</li> <li>• os pacientes foram monitorizados quanto à toxicidade por entrevista telefónica, após cada administração de dose durante 1 semana</li> </ul>	O pico dos níveis plasmáticos ocorreu 1,5h após cada administração
(Brown et al., 2010)	40 indivíduos saudáveis	0,5; 1; 2,5; 5g	<ul style="list-style-type: none"> <li>• medições de IGF-1 e IGFBP-3 feitas de dia 21 a dia 28, 24h após a administração de cada dose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2,5g foi a dose que levou a maior redução da IGF-1 e de IGFBP-3 (marcadores de crescimento tumoral);</li> <li>• Efeitos adversos a nível gastrointestinal</li> </ul>
(Patel et al., 2010)	20 indivíduos com cancro no cólon	0,5g; 1g	<ul style="list-style-type: none"> <li>• administração durante 8 dias antes da biópsia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• diminuição da proliferação das células do cancro do cólon;</li> <li>• 5% diminuição no crescimento das células tumorais</li> </ul>

#### 4. CONCLUSÃO

Nos últimos anos tem-se assistido a um grande investimento na investigação de novas formulações farmacêuticas para a otimização da ação terapêutica em diferentes moléculas, onde se pode destacar o investimento num polifenol – o resveratrol (Figura 8).

Entre 1940 e 2014 existem mais de 6437 publicações, acerca do resveratrol, referenciadas no PubMed; o que revela grande interesse no desenvolvimento de formas farmacêuticas capazes de aumentar a biodisponibilidade desta molécula, tendo por base muito delas uma ciência igualmente atual e inovadora como a nanotecnologia (Singh e Pai, 2014).

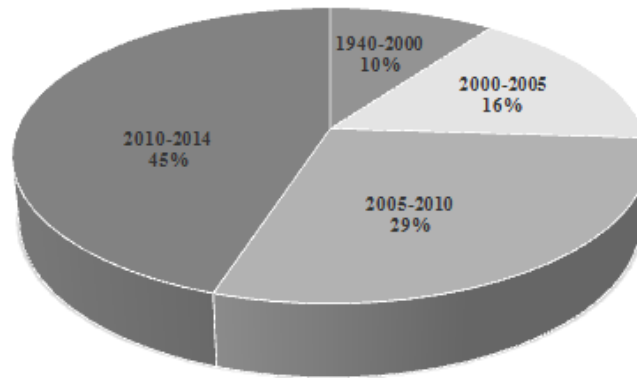


Figura 8- Percentagem de publicações de resveratrol durante os últimos 74 anos (adaptado de Singh e Pai, 2014)

Este investimento já se traduz atualmente em ensaios clínicos onde se tem revelado o potencial efeito terapêutico dos polifenóis.

Da revisão bibliográfica efetuada, é notório que apesar do potencial terapêutico da abordagem à escala nanométrica, o estado da arte ainda é incipiente, pelo que é expetável um crescente investimento científico nesta área.



## 5. BIBLIOGRAFIA

- Aggarwal, B. B., Bhardwaj, A., & Aggarwal, R. S. (2004). Role of Resveratrol in Prevention and Therapy of Cancer : Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Research*, 24, 3–60.
- Akhtar, F., Alam, M. M., & Kumar, S. (2012). Oral delivery of curcumin bound to chitosan nanoparticles cured Plasmodium yoelii infected mice. *Biotechnology Advances*, 30(1), 310–320. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.05.009
- Alomrani, A. H. (2014). Novel sulphur-loaded solid lipid nanoparticles with enhanced intestinal permeability, 129–144.
- Anand, P., Nair, H. B., Sung, B., Kunnumakkara, A. B., Yadav, V. R., Tekmal, R. R., & Aggarwal, B. B. (2010). Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. *Biochemical Pharmacology*, 79(3), 330–8. doi:10.1016/j.bcp.2009.09.003
- Bharali, D. J., Siddiqui, I. a, Adhami, V. M., Chamcheu, J. C., Aldahmash, A. M., Mukhtar, H., & Mousa, S. a. (2011). Nanoparticle delivery of natural products in the prevention and treatment of cancers: current status and future prospects. *Cancers*, 3(4), 4024–45. doi:10.3390/cancers3044024
- Blasi, P., Giovagnoli, S., Schoubben, A., Ricci, M., & Rossi, C. (2007). Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 454–77. doi:10.1016/j.addr.2007.04.011
- Boocock, D. J., Faust, G. E. S., Patel, K. R., Schinas, A. M., Brown, V. a, Ducharme, M. P., ... Brenner, D. E. (2007). Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention : A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 16(6), 1246–52. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-0022
- Brown, V. A., Patel, K. R., Viskaduraki, M., Crowell, J. A., Perloff, M., Brown, K., ... Brenner, D. E. (2010). Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics and effect on the insulin-like growth factor axis. *Cancer Res*, 70(22), 9003–9011. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2364.Repeat
- Bu, L., Gan, L.-C., Guo, X.-Q., Chen, F.-Z., Song, Q., Qi-Zhao, ... Yao, Q. (2013). Trans-resveratrol loaded chitosan nanoparticles modified with biotin and avidin to target hepatic carcinoma. *International Journal of Pharmaceutics*, 452(1-2), 355–62. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.05.007

- Cadena, P. G., Pereira, M. a, Cordeiro, R. B. S., Cavalcanti, I. M. F., Barros Neto, B., Pimentel, M. D. C. C. B., ... Santos-Magalhães, N. S. (2013). Nanoencapsulation of quercetin and resveratrol into elastic liposomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1828(2), 309–16. doi:10.1016/j.bbamem.2012.10.022
- Cheng, K. K., Yeung, C. F., Ho, S. W., Chow, S. F., Chow, A. H. L., & Baum, L. (2013). Highly stabilized curcumin nanoparticles tested in an in vitro blood-brain barrier model and in Alzheimer's disease Tg2576 mice. *The AAPS Journal*, 15(2), 324–36. doi:10.1208/s12248-012-9444-4
- Cummings, J. L., Morstorf, T., & Zhong, K. (2014). Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures. *Alzheimer's Research & Therapy*, 6(4), 37. doi:10.1186/alzrt269
- Das, R. K., Kasoju, N., & Bora, U. (2010). Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(1), 153–60. doi:10.1016/j.nano.2009.05.009
- De la Lastra, C. A., & Villegas, I. (2005). Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: mechanisms and clinical implications. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(5), 405–30. doi:10.1002/mnfr.200500022
- Doktorovová, S., Santos, D. L., Costa, I., Andreani, T., Souto, E. B., & Silva, A. M. (2014). Cationic solid lipid nanoparticles interfere with the activity of antioxidant enzymes in hepatocellular carcinoma cells. *International Journal of Pharmaceutics*, 471(1-2), 18–27. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.05.011
- Doktorovova, S., Souto, E. B., & Silva, A. M. (2014). Nanotoxicology applied to solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers - a systematic review of in vitro data. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 87(1), 1–18. doi:10.1016/j.ejpb.2014.02.005
- Fang, J.-Y., Lee, W.-R., Shen, S.-C., & Huang, Y.-L. (2006). Effect of liposome encapsulation of tea catechins on their accumulation in basal cell carcinomas. *Journal of Dermatological Science*, 42(2), 101–9. doi:10.1016/j.jdermsci.2005.12.010
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510–523. doi:10.1016/j.tifs.2010.08.003

- Felice, F., Zambito, Y., Belardinelli, E., D'Onofrio, C., Fabiano, A., Balbarini, A., & Di Stefano, R. (2013). Delivery of natural polyphenols by polymeric nanoparticles improves the resistance of endothelial progenitor cells to oxidative stress. *European Journal of Pharmaceutical Sciences : Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 50(3-4), 393–9. doi:10.1016/j.ejps.2013.08.008
- Frkmont, L. (2000). Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*, 66(8), 663–673.
- Goldberg, D. M., Yan, J., & Soleas, G. J. (2003). Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clinical Biochemistry*, 36(1), 79–87. doi:10.1016/S0009-9120(02)00397-1
- Gong, C., Wu, Q., Wang, Y., Zhang, D., Luo, F., Zhao, X., ... Qian, Z. (2013). A biodegradable hydrogel system containing curcumin encapsulated in micelles for cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 34(27), 6377–87. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.05.005
- Guo, W., Li, A., Jia, Z., Yuan, Y., Dai, H., & Li, H. (2013). Transferrin modified PEG-PLA-resveratrol conjugates: in vitro and in vivo studies for glioma. *European Journal of Pharmacology*, 718(1-3), 41–7. doi:10.1016/j.ejphar.2013.09.034
- Gupta, Subash C., Kim, J., Prasad, S., Aggarwal, B. (2010). Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer Metastasis Rev*, 29(3), 74–95. doi:10.1007/s10555-010-9235-2.Regulation
- Heredia, A., Davis, C., Redfield, R. (2000). Synergistic inhibition of HIV-1 in activated and resting peripheral blood mononuclear cells, monocyte-derived macrophages, and selected drug-resistant isolates with nucleoside analogues combined with a natural product, resveratrol. *JAIDS*, 25, 246–255.
- Huang, Y.-B., Tsai, M.-J., Wu, P.-C., Tsai, Y.-H., Wu, Y.-H., & Fang, J.-Y. (2011). Elastic liposomes as carriers for oral delivery and the brain distribution of (+)-catechin. *Journal of Drug Targeting*, 19(8), 709–18. doi:10.3109/1061186X.2010.551402
- Hung, C., Chen, J., Liao, M.H., Lo, H.M., Fabg, J. Y. (2006). Development and evaluation of emulsion-liposome blends for resveratrol delivery. *J Nanosci Nanotechnol*.
- Iu, C. L., & Hang, F. C. (2011). Development and Characterization of Eucalyptol Microemulsions for Topic Delivery of Curcumin. *Chem Pharm Bull*, 59(2), 172–178.
- Jain, P. K., Kharya, M. D., Gajbhiye, A., Sara, U. V. S., & Sharma, V. K. (2010). Flavonoids as nutraceuticals . A review. *D. J. C. Pharmacy*, 56(2)

- Jose, S., Anju, S. S., Cinu, T. a, Aleykutty, N. a, Thomas, S., & Souto, E. B. (2014). In vivo pharmacokinetics and biodistribution of resveratrol-loaded solid lipid nanoparticles for brain delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 474(1-2), 6–13. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.08.003
- Joshi, M. D., & Müller, R. H. (2009). Lipid nanoparticles for parenteral delivery of actives. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 71(2), 161–72. doi:10.1016/j.ejpb.2008.09.003
- Kesarwani, K., Gupta, R., & Mukerjee, A. (2013). Bioavailability enhancers of herbal origin: an overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(4), 253–66. doi:10.1016/S2221-1691(13)60060-X
- Khan, N. Bharali, D. (2013). Oral administration of naturally occurring chitosan based nanoformulated green tea polyphenol EGCG effectively inhibits prostate cancer cell growth in xenograft model. *Carcinogenesis*, 35, 415–23.
- Kim, H., Kawazoe, T., Han, D.-W., Matsumara, K., Suzuki, S., Tsutsumi, S., & Hyon, S.-H. (2008). Enhanced wound healing by an epigallocatechin gallate-incorporated collagen sponge in diabetic mice. *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(5), 714–20. doi:10.1111/j.1524-475X.2008.00422.x
- Klass, B. R., Branford, O. a, Grobbelaar, A. O., & Rolfe, K. J. (2010). The effect of epigallocatechin-3-gallate, a constituent of green tea, on transforming growth factor-beta1-stimulated wound contraction. *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 18(1), 80–8. doi:10.1111/j.1524-475X.2009.00552.x
- Kumar, R., Verma, V., Jain, A., Jain, R. K., Maikhuri, J. P., & Gupta, G. (2011). Synergistic chemoprotective mechanisms of dietary phytoestrogens in a select combination against prostate cancer. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(8), 723–31. doi:10.1016/j.jnutbio.2010.06.003
- Leonarduzzi, G., Testa, G., Sottero, B., Gamba, P., & Poli, G. (2010). Design and Development of Nanovehicle-Based Delivery Systems for Preventive or Therapeutic Supplementation with Flavonoids. *Current Medicinal Chemistry*, 17(1), 74–95. doi:10.2174/092986710789957760

- Leoni, V., Masterman, T., Patel, P., Meaney, S., Diczfalusy, U., & Björkhem, I. (2003). Side chain oxidized oxysterols in cerebrospinal fluid and the integrity of blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Journal of Lipid Research*, 44(4), 793–9. doi:10.1194/jlr.M200434-JLR200
- Leu, J.-G., Chen, S.-A., Chen, H.-M., Wu, W.-M., Hung, C.-F., Yao, Y.-D., ... Liang, Y.-J. (2012). The effects of gold nanoparticles in wound healing with antioxidant epigallocatechin gallate and  $\alpha$ -lipoic acid. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(5), 767–75. doi:10.1016/j.nano.2011.08.013
- Li, L., Ahmed, B., Mehta, K., & Kurzrock, R. (2007). Liposomal curcumin with and without oxaliplatin: effects on cell growth, apoptosis, and angiogenesis in colorectal cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(4), 1276–82. doi:10.1158/1535-7163.MCT-06-0556
- Li, L., Braiteh, F. S., & Kurzrock, R. (2005). Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer*, 104(6), 1322–31. doi:10.1002/cncr.21300
- Lin, Z., Li, J., & Fang, D. (2014). SIRT1 Involvement in Virus- Mediated Diseases. *JSM Microbiology*, (31).
- Lu, Y., Ding, N., Yang, C., Huang, L., Liu, J., & Xiang, G. (2012). Preparation and in vitro evaluation of a folate-linked liposomal curcumin formulation. *Journal of Liposome Research*, 22(2), 110–9. doi:10.3109/08982104.2011.627514
- Lu, Y., & Low, P. S. (2002). Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 342–352. doi:10.1016/j.addr.2012.09.020
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jime, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability 1,2. *The American Journal of Clinical Nutrition*.
- Mangalathillam, S., Rejinold, N. S., Nair, A., Lakshmanan, V.-K., Nair, S. V, & Jayakumar, R. (2012). Curcumin loaded chitin nanogels for skin cancer treatment via the transdermal route. *Nanoscale*, 4(1), 239–50. doi:10.1039/c1nr11271f
- Manuscript, A. (2009). Protective effect of quercetin in primary neurons against AB (1-42): Relevance to Alzheimer's Disease. *J Nutr Biochem*, 20(4), 269–275. doi:10.1016/j.jnutbio.2008.03.002.Protective
- Marier, J., Vachon, P., Gritsas, A. R. I., Zhang, J. I. E., Moreau, J., Ducharme, M. P., ... Canada, J. M. (2002). Metabolism and Disposition of Resveratrol in Rats : Extent of Absorption , Glucuronidation , and Enterohepatic Recirculation Evidenced by a Linked-Rat Model. *The J Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302(1), 369–373. doi:10.1124/jpet.102.033340.cesses

- Mignet, N., Seguin, J., & Chabot, G. G. (2013). Bioavailability of polyphenol liposomes: a challenge ahead. *Pharmaceutics*, 5(3), 457–71. doi:10.3390/pharmaceutics5030457
- Miyazaki, K., & Islam, N. (2007). Nanotechnology systems of innovation—An analysis of industry and academia research activities. *Technovation*, 27(11), 661–675. doi:10.1016/j.technovation.2007.05.009
- Mohanty, C., Das, M., & Sahoo, S. K. (2012). Emerging role of nanocarriers to increase the solubility and bioavailability of curcumin. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(11), 1347–64. doi:10.1517/17425247.2012.724676
- Muqbil, I., Masood, A., Sarkar, F. H., Mohammad, R. M., & Azmi, A. S. (2011). Progress in nanotechnology based approaches to enhance the potential of chemopreventive agents. *Cancers*, 3(1), 428–45. doi:10.3390/cancers3010428
- Nagarajan, S., Nagarajan, R., Brauhut, S. J., Bruno, F., McIntosh, D., Samuelson, L., & Kumar, J. (2008). Biocatalytically oligomerized epicatechin with potent and specific anti-proliferative activity for human breast cancer cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 13(11), 2704–16. doi:10.3390/molecules13112704
- Narayanan, N. K., Nargi, D., Randolph, C., & Narayanan, B. a. (2009). Liposome encapsulation of curcumin and resveratrol in combination reduces prostate cancer incidence in PTEN knockout mice. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 125(1), 1–8. doi:10.1002/ijc.24336
- Neves, A. R., Lúcio, M., Martins, S., Luís, J., & Lima, C. (2013). Novel resveratrol nanodelivery systems based on lipid nanoparticles to enhance its oral bioavailability. *International Journal of Nanomedicine*, 177–187.
- Ochekpe, N. A., Olorunfemi, P. O., & Ndidi, C. (2009a). Nanotechnology and Drug Delivery Part 1 : Background and Applications, 8(June), 265–274.
- Ochekpe, N. A., Olorunfemi, P. O., & Ndidi, C. (2009b). Nanotechnology and Drug Delivery Part 2 : Nanostructures for Drug Delivery, 8(June), 275–287.
- Of, V. I., & Ancer, H.-C. O. C. (2014). *The effects of resveratrol encapsulated nanoparticles on viability of HT-29 colon cancer cells*. Faculty of Texas.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–8. doi:10.4161/oxim.2.5.9498
- Panyam, J., & Labhasetwar, V. (2003). Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(3), 329–347. doi:10.1016/S0169-409X(02)00228-4

- Patel, K. R., Brown, V. a, Jones, D. J. L., Britton, R. G., Hemingway, D., Miller, A. S., ... Brown, K. (2010). Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. *Cancer Research*, *70*(19), 7392–9. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2027
- Peres, I., Rocha, S., Gomes, J., Morais, S., Pereira, M. C., & Coelho, M. (2011). Preservation of catechin antioxidant properties loaded in carbohydrate nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, *86*(1), 147–153. doi:10.1016/j.carbpol.2011.04.029
- Plapied, L., Duhem, N., des Rieux, A., & Pr eat, V. (2011). Fate of polymeric nanocarriers for oral drug delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *16*(3), 228–237. doi:10.1016/j.cocis.2010.12.005
- Rachmawati, H., Budiputra, D. K., & Mauludin, R. (2014). Curcumin nanoemulsion for transdermal application: formulation and evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *9045*, 1–7. doi:10.3109/03639045.2014.884127
- Sahoo, S. K., Parveen, S., & Panda, J. J. (2007). The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, *3*(1), 20–31. doi:10.1016/j.nano.2006.11.008
- Samim, M., Naqvi, S., Arora, I., Ahmad, F. J., & Maitra, A. (2011). Antileishmanial activity of nanocurcumin – Retracted. *Therapeutic Delivery*, *2*(2), 223–230. doi:10.4155/tde.10.113
- Sanna, V., Siddiqui, I., Sechi, M., Mukhtar, H. (2014). Resveratrol-Loaded Nanoparticles Based on Poly(epsilon-caprolactone) and Poly(-lactic-co-glycolic acid) - Poly(ethyleneglycol) Blend for Prostate Cancer Treatment. *Mol Pharm*, *10*(10), 3871–3881. doi:10.1021/mp400342f.Resveratrol-Loaded
- Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond 1–3. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *81*, 215–217.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *45*(4), 287–306. doi:10.1080/1040869059096
- Severino, P., Andreani, T., J ager, A., Chaud, M. V, Santana, M. H. a, Silva, A. M., & Souto, E. B. (2014). Solid lipid nanoparticles for hydrophilic biotech drugs: optimization and cell viability studies (Caco-2 & HEPG-2 cell lines). *European Journal of Medicinal Chemistry*, *81*, 28–34. doi:10.1016/j.ejmech.2014.04.084
- Si, H.-Y., Li, D.-P., Wang, T.-M., Zhang, H.-L., Ren, F.-Y., Xu, Z.-G., & Zhao, Y.-Y. (2010). Improving the Anti-Tumor Effect of Genistein with a Biocompatible Superparamagnetic Drug Delivery System. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *10*(4), 2325–2331. doi:10.1166/jnn.2010.1913

- Siddiqui, I. a, Bharali, D. J., Nihal, M., Adhami, V. M., Khan, N., Chamcheu, J. C., ... Mukhtar, H. (2014). Excellent anti-proliferative and pro-apoptotic effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate encapsulated in chitosan nanoparticles on human melanoma cell growth both in vitro and in vivo. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. doi:10.1016/j.nano.2014.05.007
- Singh, G., & Pai, R. S. (2014). Recent advances of resveratrol in nanostructured based delivery systems and in the management of HIV/AIDS. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 194C, 178–188. doi:10.1016/j.jconrel.2014.09.002
- Spencer, J. P. E., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A.-M., & Mathers, J. C. (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *The British Journal of Nutrition*, 99(1), 12–22. doi:10.1017/S0007114507798938
- Suwannateep, N., Wanichwecharungruang, S., Haag, S. F., Devahastin, S., Groth, N., Fluhr, J. W., ... Meinke, M. C. (2012). Encapsulated curcumin results in prolonged curcumin activity in vitro and radical scavenging activity ex vivo on skin after UVB-irradiation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 82(3), 485–90. doi:10.1016/j.ejpb.2012.08.010
- Tan, B., Liu, Y., Chang, K., Lim, B., Chiu, G. (2012). Perorally active nanomicellar formulation of quercetin in the treatment of lung cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 651–661.
- Testa, G., Gamba, P., Badilli, U., Gargiulo, S., Maina, M., Guina, T., ... Leonarduzzi, G. (2014). Loading into nanoparticles improves quercetin's efficacy in preventing neuroinflammation induced by oxysterols. *PloS One*, 9(5), e96795. doi:10.1371/journal.pone.0096795
- Thangapazham, R., Puri, A., Tele, S., Blumenthal, R., Maheshwari, R. (2008). Evaluation of a nanotechnology based carrier for delivery of curcumin in prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 32(5), 1119–1123.
- Thilakarathna, S. H., & Rupasinghe, H. P. V. (2013). Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. *Journal Nutrients*, 3367–3387. doi:10.3390/nu5093367
- Touzet, O., & Philips, A. (2010). Resveratrol protects against protease inhibitor-induced reactive oxygen species production, reticulum stress and lipid raft perturbation. *AIDS (London, England)*, 24(10), 1437–47. doi:10.1097/QAD.0b013e32833a6114
- Tronnes, J. N. (2012). *Development of liposomal formulation for green tea catechins targeted for the treatment of vaginal inflammation.*

- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–46. doi:10.3390/nu2121231
- Ullah, M. F., Ahmad, A., Zubair, H., Khan, H. Y., Wang, Z., Sarkar, F. H., & Hadi, S. M. (2011). Soy isoflavone genistein induces cell death in breast cancer cells through mobilization of endogenous copper ions and generation of reactive oxygen species. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(4), 553–9. doi:10.1002/mnfr.201000329
- Volf, I., Ignat, I., Neamtu, M., & Popa, V. I. (2013). Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. *Chemical Papers*, 68(1), 121–129. doi:10.2478/s11696-013-0417-6
- Weichselbaum, E., & Buttriss, J. L. (2010). Polyphenols in the diet. *Nutrition Bulletin*, 35(2), 157–164. doi:10.1111/j.1467-3010.2010.01821.x
- Weitz, T. M., & Town, T. (2012). Microglia in Alzheimer's Disease: It's All About Context. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, 314185. doi:10.1155/2012/314185
- Whitesides, G. M. (2003). The “right” size in nanobiotechnology. *Nature Biotechnology*, 21(10), 1161–5. doi:10.1038/nbt872
- Wyss-Coray, T., Rogers, J., & Rogers, J. (2012). Inflammation in Alzheimer Disease — A Brief Review of the Basic Science and Clinical Literature. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1–23.