

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo deste
documento será disponibilizado
somente a partir de 28/03/2027.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Campus de Araraquara



JENNIFER THAYANNE CAVALCANTE DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CURCUMINA ENCAPSULADO EM
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS ASSOCIADAS AO SUCCINATO DE D-
 α -TOCOFERIL POLIETILENOGLICOL 1000 FUNCIONALIZADAS COM
BEVACIZUMABE NO TRATAMENTO DE CÂNCER DE PRÓSTATA**

Araraquara, SP
2025

JENNIFER THAYANNE CAVALCANTE DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CURCUMINA ENCAPSULADO EM
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS ASSOCIADAS AO SUCCINATO DE D-
A-TOCOFERIL POLIETILENOGLICOL 1000 FUNCIONALIZADAS COM
BEVACIZUMABE NO TRATAMENTO DE CÂNCER DE PRÓSTATA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP, para obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientadora: Dra. Aline Martins dos Santos

Araraquara, SP

2025

A663a

Araújo, Jennifer Thyanne Cavalcante de.

Avaliação do potencial da curcumina encapsulada em nanopartículas poliméricas associadas ao succinato de D- α -tocoferil polietilenoglicol 1000 funcionalizadas com bevacizumabe no tratamento do câncer de próstata / Jennifer Thyanne Cavalcante de Araújo. – Araraquara, 2025.

113 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Marlus Chorilli.

Coorientadora: Aline Martins dos Santos.

1. *Curcuma longa* L. 2. Poli- ϵ -caprolactona. 3. Anticorpo monoclonal. 4. Nanopartículas. 5. Câncer de próstata. I. Chorilli, Marlus, orient. II. Santos, Aline Martins dos, coorient. III. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Kazumi Tomoyose - CRB 8/10904

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CURCUMINA ENCAPSULADA EM NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS ASSOCIADAS AO SUCCINATO DE D--TOCOFERIL POLIETILENOGLICOL 1000 FUNCIONALIZADAS COM BEVACIZUMABE NO TRATAMENTO DE CÂNCER DE PRÓSTATA

AUTORA: JENNIFER THAYANNE CAVALCANTE DE ARAUJO

ORIENTADOR: MARLUS CHORILLI

COORDINADORA: ALINE MARTINS DOS SANTOS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências, área de conhecimento: Farmácia pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Presencial)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. TAÍS GRATIERI (Participação Virtual)
Departamento de Farmácia / Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (UnB)

Profa. Dra. DANIELE RIBEIRO DE ARAUJO (Participação Virtual)
Departamento de Biofísica / Campus São Paulo da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Profa. Dra. LETÍCIA CRUZ (Participação Virtual)
Departamento de Farmácia Industrial / Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Profa. Dra. ELENARA MARIA TEIXEIRA LEMOS SENNA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Farmacêuticas / Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Araraquara, 28 de março de 2025

Dedico este trabalho aos meus pais, Ana e Rosivaldo, aos meus avós Graça e Jorge (*in memoriam*), e ao meu esposo Alberto Junior, que me apoiaram para chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à Deus, pois sem Ele nada disso seria possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marlus Chorilli, agradeço por ter aceitado me orientar (sem me conhecer), acreditando no meu potencial para desenvolver uma pesquisa totalmente nova. Obrigada pela confiança e apoio, principalmente nos momentos críticos, como quando o projeto precisou ser reiniciado na metade do doutorado, mantendo sua positividade na situação. Sou grata também pelo seu incentivo para obtenção da bolsa FAPESP, pois esta foi fundamental para me proporcionar novas experiências e adquirir novos conhecimentos no estágio de pesquisa no exterior.

A minha co-orientadora, Dr^a. Aline Martins dos Santos, por todas as discussões científicas que contribuíram para o meu crescimento profissional, por todo auxílio no desenvolvimento prático e teórico da pesquisa. Obrigada pela amizade e pelas inúmeras conversas e conselhos nas nossas pequenas pausas na hora do café.

Ao Dr. Alberto Tavares Junior pela colaboração nas análises de rastreamento de nanopartículas, espectroscopia de infravermelho e calorimetria diferencial.

Ao Laboratório de bioquímica e hematologia geral, em especial à Prof^a Dr^a Amanda Baviera e a Dr^a. Ingrid Delbone pela colaboração na realização do ensaio de integridade do anticorpo através da técnica de SDS-Page.

A Prof^a. Dr^a. Taís Bauab e Carol pela colaboração no ensaio de toxicidade em modelo alternativo de *Galleria mellonella*.

Ao Prof. Dr. Carlos Rossa e a Gabriela de Souza pela colaboração na obtenção de dados de citometria de fluxo.

A Dr^a. Paula Aboud pela colaboração na obtenção das imagens de microscopia de fluorescência confocal.

A toda equipe do Laboratório de Imunologia e Patologia Geral da Universidade de Insubria (Varese, Itália) e Laboratório de Imunidade Inata do Polo Científico do IRCCS Multimedica (Milão, Itália), que auxiliaram nos experimentos celulares *in vitro* durante o estágio de pesquisa no exterior.

Aos amigos que Araraquara me proporcionou: Bruna, Amanda, Giovanna, Suzana, Marcela, Jessyca, Jonatas, Geanne, Fernanda e Victor que tornaram os dias mais leves durante a jornada do doutorado. Sou grata por ter conhecido todos vocês.

Ao Alberto Junior, meu companheiro, que aceitou mudar de estado e viver essa experiência comigo. Obrigada pelo carinho, apoio, paciência, zelo e compreensão.

Ao CNPq, pelo apoio à pesquisa, que proporcionou os 15 meses iniciais de bolsa de doutorado.

À FAPESP, pelo apoio à pesquisa, que proporcionou o financiamento da pesquisa com reserva técnica, bolsa de doutorado (Processo nº 2020/06212-3) e bolsa de pesquisa no exterior (Processo nº 2023/02591-8).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

DECLARAÇÃO

Declaro ter desenvolvido e elaborado o presente trabalho em consonância com o Código de Ética da Unesp. Afirmando não ter incorrido em qualquer das variedades de fraude acadêmica, que aqui declaro conhecer, e que atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, assumindo, na íntegra, as responsabilidades de autoria

RESUMO

A curcumina (Cur), um polifenol obtido da *Curcuma longa* L., possui propriedades promissoras para o tratamento do câncer de próstata. O uso do tensoativo D- α -tocoferil polietilenoglicol 1000 succinato (TPGS) na composição de nanopartículas poliméricas pode melhorar a solubilidade aquosa e a baixa biodisponibilidade da Cur, e a utilização de bevacizumabe (Bvz), anticorpo anti-VEGF, pode promover o direcionamento para as células tumorais. Assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona (PCL) contendo TPGS carregadas com Cur (Cur-NP) e funcionalizadas com Bvz (Bvz/Cur-NP) para avaliar sua atividade antitumoral em células de câncer de próstata. A Bvz/Cur-NP apresentou diâmetro hidrodinâmico médio de 176 a 203 nm, com distribuição homogênea (0,159 a 0,253), potencial zeta negativo de -19,5 a -22,8 mV, alta eficiência de encapsulamento (98%) e funcionalização (80%), mantendo a integridade do anticorpo após a conjugação na superfície das nanopartículas. A Bvz/Cur-NP apresentou estabilidade física por 15 dias em 5 °C. Na análise de FTIR, houve a atenuação de bandas características de Cur e por DSC a ausência de picos na Cur-NP, sugerindo que após a nanoencapsulação, a Cur passa para o estado amorfo. As nanopartículas promoveram a liberação controlada *in vitro* da Cur por até 48 horas, indicando que a liberação do fármaco seguiu o modelo de Hixson-Crowell. Nos ensaios biológicos *in vitro*, a Cur-NP e Bvz/Cur-NP demonstraram eficiência em internalizar as células de câncer de próstata, com boa atividade citotóxica dependente da dose e do tempo para as células DU-145 e PC-3, além de baixa ação citotóxica para a célula endotelial, HUVEC. Ambas as nanopartículas reduziram a capacidade de adesão celular para as células DU-145 e PC-3. A Bvz/Cur-NP demonstrou boa ação inibitória de migração e invasão celular para ambas as células tumorais. Contudo, a Cur-NP apresentou ação anti-migratória para DU-145 e PC-3, e inibiu a invasão celular somente em célula DU-145. No ensaio *in vivo*, o Bvz evidenciou alto potencial tóxico em larvas de *Galleria mellonella*, contudo, sua toxicidade foi reduzida quando funcionalizado na Bvz/Cur-NP, sugerindo potencial protetor das nanopartículas decorrente da ação direta do anticorpo. Além disso, a Cur-NP não foi considerada tóxica para as larvas de *G. mellonella*. Deste modo, esses resultados demonstram que as nanopartículas baseadas em PCL e TPGS associadas ao Bvz são uma abordagem promissora para melhorar a eficácia da Cur no tratamento do câncer de próstata.

Palavras-chave: *Curcuma longa* L.; poli- ϵ -caprolactona; anticorpo monoclonal; nanopartículas; câncer de próstata.

ABSTRACT

Curcumin (Cur), a polyphenol obtained from *Curcuma longa* L., has promising properties for the treatment of prostate cancer. The use of D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) surfactant in the composition of polymeric nanoparticles can improve the aqueous solubility and low bioavailability of Cur, and the use of bevacizumab (Bvz), an anti-VEGF antibody, promotes targeting to tumor cells. Thus, the present work aimed to develop poly- ϵ -caprolactone (PCL) nanoparticles containing TPGS loaded with Cur (Cur-NP) and functionalized with Bvz (Bvz/Cur-NP) to evaluate their antitumor activity in prostate cancer cells. Bvz/Cur-NP showed an average hydrodynamic diameter of 176 to 203 nm, with homogeneous distribution (0.159 to 0.253), negative zeta potential of -19.5 to -22.8 mV, high encapsulation efficiency (98%) and functionalization (80%), maintaining the integrity of the antibody after conjugation on the surface of the nanoparticles. Bvz/Cur-NP showed physical stability for 15 days at 5 °C. In the FTIR analysis, there was attenuation of Cur characteristic bands and by DSC, the absence of peaks in Cur-NP, suggesting that after nanoencapsulation, Cur passes to the amorphous state. The nanoparticles promoted the controlled *in vitro* release of Cur for up to 48 hours, indicating that the drug release followed the Hixson-Crowell model. In *in vitro* biological assays, Cur-NP and Bvz/Cur-NP demonstrated efficiency in internalizing prostate cancer cells, with good dose- and time-dependent cytotoxic activity for DU-145 and PC-3 cells, in addition to low cytotoxic action for endothelial cells, HUVEC. Both nanoparticles reduced the cell adhesion capacity for DU-145 and PC-3 cells. Bvz/Cur-NP demonstrated good inhibitory action on cell migration and invasion for both tumor cells. However, Cur-NP showed anti-migratory action for DU-145 and PC-3, and inhibited cell invasion only in DU-145 cells. In the *in vivo* assay, Bvz showed high toxic potential in *Galleria mellonella* larvae, however, its toxicity was reduced when functionalized in Bvz/Cur-NP, suggesting protective potential of the nanoparticles due to the direct action of the antibody. Furthermore, Cur-NP was not found to be toxic to larvae. Thus, these results demonstrate that PCL- and TPGS-based nanoparticles associated with Bvz are a promising approach to improve the efficacy of Cur in the treatment of prostate cancer.

Keywords: *Curcuma longa* L.; poly- ϵ -caprolactone; monoclonal antibody; nanoparticles; prostate cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração destacando os principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de próstata e as diferentes terapias preconizadas.....	19
Figura 2 – Estrutura química da curcumina.....	21
Figura 3 – Síntese e estrutura química da poli(ϵ -caprolactona).....	22
Figura 4 – Estrutura química do TPGS.....	23
Figura 5 – Ilustração de célula tumoral em processo de angiogênese pela alta produção de VEGF-A e a inibição da via pelo bevacizumabe	25
Figura 6 – Representação esquemática do desenvolvimento das nanopartículas carregadas com Cur (Cur-NP).....	30
Figura 7 – Esquema da síntese de ativação do TPGS com o ácido glutárico	31
Figura 8 – Esquema da reação de funcionalização das nanopartículas com Bvz pela química da carbodiimida.....	32
Figura 9 – Representação esquemática do preparo das nanopartículas carregadas com Cur e funcionalizadas com Bvz (Bvz/Cur-NP)	33
Figura 10 – Espectro de FTIR da síntese de ativação do TPGS: a) TPGS-COOH, b) TPGS.....	44
Figura 11 – Eficiência de funcionalização em função do tempo de reação com reticulantes EDC/sulfo-NHS na ativação do grupo carboxílico das nanopartículas...48	
Figura 12 – Eletroforese SDS-Page de Bvz e Bvz/Cur-NP em diferentes tempos de reação com mistura de reticulantes (EDC/sulfo-NHS): a) 2 horas de reação, b) 4 horas de reação e c) 24 horas de reação.....	49
Figura 13 – Termogramas de NanoDSC do Bvz e Bvz/Cur-NP em diferentes tempos de ativação dos reticulantes no processo de funcionalização. a) Bvz, b) Bvz/Cur-NP-I (2 horas), c) Bvz/Cur-NP-II (4 horas), e d) Bvz/Cur-NP-III (24 horas).	51
Figura 14 – Espectro de dicróismo circular de Bvz e Bvz/Cur-NP demonstrando os picos de comprimento de onda máximo e mínimo	52
Figura 15 – Espectro de fluorescência do Bvz e Bvz/Cur-NP em 280 nm.....	52
Figura 16 – Espectro de fluorescência do Bvz e Bvz/Cur-NP em 295 nm.....	53
Figura 17 – Micrografias das nanopartículas analisadas por FIB-MEV: a) Blank-NP-COOH; b) Cur-NP-COOH; c) Bvz/Cur-NP.....	55

Figura 18 – Avaliação da estabilidade de armazenamento em temperatura 3-5 °C das nanopartículas durante 90 dias. a, d) Diâmetro hidrodinâmico médio; b, e) Índice de polidispersão; c, f) Potencial zeta.....	57
Figura 19 – Espectro de FTIR dos componentes isolados e nanopartículas: a) PCL, b) TPGS-COOH, c) Cur, d) Blank-NP-COOH, e) Cur-NP-COOH, f) Bvz/Cur-NP.....	59
Figura 20 – Termogramas de calorimetria diferencial exploratória: a) PCL, b) TPGS, c) Cur, d) Blank-NP e e) Cur-NP	61
Figura 21 – Liberação cumulativa in vitro de Cur em solução e encapsulado na Cur-NP e Bvz/Cur-NP utilizando o meio receptor PBS pH 7,4 contendo 1% de Tween® 80	62
Figura 22 – Avaliação da internalização celular de nanopartículas (Cur-NP e Bvz/Cur-NP) contendo 10 µg/mL de Cur em incubação de 6 horas com fotomicrografias representativas obtidas por microscopia de fluorescência confocal: a) DU-145 e b) PC-3.	64
Figura 23 – Viabilidade celular frente a célula DU-145 em diferentes tempos de exposição as formulações Cur, Cur-NP, Blank-NP, Bvz/Cur-NP e Bvz. a) 24 horas, b) 48 horas e c) 72 horas.....	67
Figura 24 – Viabilidade celular frente a célula PC-3 em diferentes tempos de exposição as formulações Cur, Cur-NP, Blank-NP, Bvz/Cur-NP e Bvz. a) 24 horas, b) 48 horas e c) 72 horas.....	69
Figura 25 – Viabilidade celular frente a célula HUVEC em diferentes tempos de exposição as formulações Cur, Cur-NP, Blank-NP, Bvz/Cur-NP e Bvz. a) 24 horas, b) 48 horas e c) 72 horas.....	72
Figura 26 – Avaliação da ação preventiva da adesão celular em camada de fibronectina para a célula de câncer de próstata DU-145: a) Percentual de adesão celular; b) Imagens representativas da adesão celular na camada de fibronectina corada com Hoechst em ampliação	73
Figura 27 – Avaliação da ação preventiva da adesão celular em camada de fibronectina para a célula de câncer de próstata PC-3: a) Percentual de adesão celular; b) Imagens representativas da adesão celular na camada de fibronectina corada com Hoechst em ampliação de 10x	74
Figura 28 – Avaliação da prevenção da migração para DU-145 após pré-tratamento de 48 horas a 0,1 µg/mL de Cur em nanopartículas e 0,5 µg/mL de Bvz. a) Percentual	

de migração celular normalizado; b) Imagens representativas da migração celular na membrana corada com Hoeschst em ampliação de 10x.....	76
Figura 29 – Avaliação da prevenção da migração para PC-3 após pré-tratamento de 48 horas a 0,1 µg/mL de Cur em nanopartículas e 0,5 µg/mL de BVZ. a) Percentual de migração celular normalizado; b) Imagens representativas da migração celular na membrana corada com Hoechst em ampliação de 10x	77
Figura 30 – Avaliação da prevenção da invasão para DU-145 após pré-tratamento de 48 horas a 0,1 µg/mL de Cur em nanopartículas e 0,5 µg/mL de Bvz. a) Percentual de invasão celular normalizado; b) Imagens representativas da invasão celular na membrana corada com Hochst em ampliação de 10x.....	78
Figura 31 – Avaliação da prevenção da invasão para PC-3 após pré-tratamento de 48 horas a 0,1 µg/mL de Cur em nanopartículas e 0,5 µg/mL de Bvz. a) Percentual de invasão celular normalizado; b) Imagens representativas da invasão celular na membrana corada com Hoechst em ampliação de 10x	79
Figura 32 – Toxicidade aguda das nanopartículas em larvas de <i>G. mellonella</i> . a-e) Curva de sobrevivência das formulações; f) Índice de saúde das larvas durante 72 horas utilizando dose não letal	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos parâmetros de avaliação diária para a pontuação de índice de saúde das larvas de <i>G. mellonella</i>	41
Tabela 2 – Caracterização em termos de diâmetro hidrodinâmico médio (DHM), índice de polidispersão (Pdl), potencial zeta (PZ) e eficiência de encapsulação (EE) das nanopartículas carregadas com Cur (Cur-NP).	42
Tabela 3 – Caracterização em termos de diâmetro hidrodinâmico médio (DHM), índice de polidispersão (Pdl), potencial zeta (PZ) das nanopartículas brancas e carregadas com Cur preparadas com TPGS-COOH	45
Tabela 4 – Determinação do diâmetro hidrodinâmico médio (DHM), índice de polidispersão (Pdl) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas carregadas com Cur e funcionalizadas com Bvz (Bvz/Cur-NP).....	46
Tabela 5 – Caracterização de distribuição e concentração de partículas por NTA...54	54
Aela 6 – Eficiência de encapsulação antes e após processo de funcionalização	56
Tabela 7 – Aplicação de modelos matemáticos (Baker-Lonsdale, Primeira ordem, Hixson-Crowell, Higuchi, Korsmeyer-Peppas e Weibull) para avaliação da cinética de liberação da curcumina nanoencapsulada.	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácido glutárico
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
Cur	Curcumina
DHM	Diâmetro hidrodinâmico médio
DLS	<i>Dynamic light scattering</i>
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EDC	1-Ethil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
mAb	Anticorpo monoclonal
Blank-NP-COOH	Nanopartículas brancas contendo TPGS-COOH
Cur-NP	Nanopartículas carregadas com curcumina
Bvz/Cur-NP	Nanopartículas carregadas com curcumina funcionalizadas com bevacizumabe
Cur-NP-COOH	Nanopartículas carregadas com curcumina contendo TPGS-COOH
NTA	<i>Nanoparticles tracking analysis</i>
PCL	Poli-ε-caprolactona
PdI	<i>Polydispersity index</i>
PZ	Potencial zeta
Sulfo-NHS	Sulfo-N-hidroxissuccinimida
TPGS	Succinato de D-α-tocoferil polietilenoglicol 1000 ou do inglês <i>D-α-Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate</i>
TPGS-COOH	Succinato de D-α-tocoferil polietilenoglicol 1000 com ácido carboxílico terminal ativado
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular ou do inglês <i>Vascular endothelial growth factor</i>

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1.	CÂNCER DE PRÓSTATA	18
2.2.	CURCUMINA	20
2.3.	NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	21
2.3.1.	Direcionamento de nanopartículas em células tumorais	24
2.3.1.1.	Angiogênese	24
2.3.1.2.	Bevacizumabe	25
3.	OBJETIVOS	27
3.1.	OBJETIVO GERAL	27
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4.	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1.	MATERIAIS	28
4.2.	EQUIPAMENTOS	29
4.3.	MÉTODOS	30
4.3.1.	Preparação das nanopartículas poliméricas carregadas com curcumina	30
4.3.1.1.	Determinação da concentração de TPGS	30
4.3.2.	Funcionalização das nanopartículas	30
4.3.2.1.	Síntese de ativação do TPGS	30
4.3.2.2.	Preparo das nanopartículas com TPGS-COOH	31
4.3.2.3.	Preparo das nanopartículas funcionalizadas	32
4.3.2.4.	Avaliação da eficiência de funcionalização	33
4.3.2.5.	Avaliação da integridade por SDS-PAGE	33
4.3.2.6.	Desnaturação térmica do bevacizumabe	34
4.3.2.7.	Dicroísmo circular	34
4.3.2.8.	Espectroscopia de fluorescência	34
4.4.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	35
4.4.1.	Análise do diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersão e potencial zeta	35

4.4.2. Avaliação do diâmetro hidrodinâmico, distribuição de tamanho e concentração de partículas, usando análise de rastreamento de nanopartículas (NTA, <i>nanoparticle tracking analysis</i>)	35
4.4.3. Morfologia das nanopartículas	35
4.4.4. Eficiência de encapsulação	36
4.4.5. Avaliação da estabilidade física das nanopartículas poliméricas	36
4.4.6. Análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	36
4.4.7. Análise de calorimetria diferencial exploratória	36
4.5. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA CURCUMINA	37
4.6. ENSAIO CELULAR <i>IN VITRO</i>	37
4.6.1. Cultura celular	37
4.6.2. Internalização celular por citometria de fluxo	37
4.6.3. Internalização celular por microscopia confocal	38
4.6.4. Avaliação da viabilidade celular	38
4.6.5. Adesão celular em camada de fibronectina	39
4.6.6. Migração e invasão celular	39
4.7. ENSAIO DE TOXICIDADE <i>IN VIVO</i> EM MODELO ALTERNATIVO DE <i>Galleria mellonella</i>	40
4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1. DESENVOLVIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CARREGADAS COM CURCUMINA	42
5.1.1. Determinação da concentração de TPGS	42
5.2. FUNCIONALIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	44
5.2.1. Síntese de ativação do TPGS	44
5.2.2. Nanopartículas poliméricas contendo TPGS-COOH	44
5.2.3. Caracterização em termos de DHM, Pdl e PZ das nanopartículas funcionalizadas	46
5.2.4. Eficiência de funcionalização	47
5.2.5. Avaliação da integridade do anticorpo por SDS-Page	49
5.2.6. Desnaturação térmica do anticorpo	50
5.2.7. Dicroísmo circular	51
5.2.8. Espectroscopia de fluorescência	52

5.3.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS	54
5.3.1.	Análise de rastreamento de nanopartículas (NTA)	54
5.3.2.	Morfologia das nanopartículas	55
5.3.3.	Eficiência de encapsulação	55
5.3.4.	Avaliação da estabilidade física	56
5.3.5.	Caracterização por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	58
5.3.6.	Análise térmica	60
5.4.	PERFIL DE LIBERAÇÃO DA CURCUMINA <i>IN VITRO</i>	61
5.5.	ENSAIOS CELULARES <i>IN VITRO</i>	63
5.5.1.	Internalização celular	63
5.5.2.	Viabilidade celular <i>in vitro</i>	66
5.5.3.	Adesão celular em camada de fibronectina	73
5.5.4.	Migração e invasão celular	75
5.6.	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA EM MODELO DE <i>Galleria mellonella</i>	80
6.	CONCLUSÕES	82
	REFERÊNCIAS	83
	APÊNDICE A – METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO DE CUR	103
	APÊNDICE B - RESULTADOS DA QUANTIFICAÇÃO DE CUR	105

1. INTRODUÇÃO

O câncer de próstata é um dos tipos de neoplasias mais comuns entre os homens, principalmente a partir da terceira idade (de Araújo *et al.*, 2021). O tratamento preconizado depende da progressão da doença, apresentando como principais estratégias a quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal e cirurgia (Arya *et al.*, 2019). Contudo, em estágios avançados da doença é comum o emprego da terapia com agentes quimioterápicos, que pode enfrentar o processo de resistência, causando o efluxo das células tumorais, além de desencadear diversos efeitos colaterais por também atingir células saudáveis (Arya *et al.*, 2019; Danhier; Feron; Préat, 2010; Mishra; Patel; Tiwari, 2010).

Substâncias de origem natural têm sido exploradas quanto à atividade anticâncer, como a curcumina (Cur) que é extraída dos rizomas de *Curcuma longa* L. (Naksuriya *et al.*, 2014). A Cur é um composto bioativo de cor amarela, com característica hidrofóbica, que apresenta atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, neuroprotetor e anticâncer atuando contra diferentes tipos de tumores como pulmão, colón, mama, ovário, pâncreas e próstata (Amekyeh *et al.*, 2022; Nasery *et al.*, 2022).

A ação da Cur contra células de câncer de próstata pode ocorrer pela inibição da fosforilação da via de sinalização STAT3/AKT, reduzindo a viabilidade de PC3 e DU145 e induzindo apoptose e parada do ciclo celular (Mirzael *et al.*, 2022; Sha *et al.*, 2016; Termini *et al.*, 2020). Apesar das suas propriedades biológicas, a baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade são fatores limitantes para sua utilização *in natura* como agente terapêutico (Amekyeh *et al.*, 2022; Maleki Dizaj *et al.*, 2022).

Nanopartículas poliméricas representam um meio promissor para superar essas limitações, devido ao seu tamanho reduzido, forma, propriedades de superfície, além da capacidade de controlar a liberação do fármaco e garantir sua integridade para desempenhar seu efeito biológico no local de ação/absorção (Feltrin *et al.*, 2022; Giacomeli *et al.*, 2020; Yallapu *et al.*, 2014; Yallapu *et al.*, 2010). O polímero sintético poli- ϵ -caprolactona (PCL) tem sido bastante explorado no desenvolvimento de nanopartículas poliméricas devido suas características de ser biodegradável e biocompatível (Raspantini *et al.*, 2021; Yusuf *et al.*, 2021).

O derivado da vitamina E, succinato de D- α -tocoferil polietilenoglicol 1000 (TPGS) é um tensoativo de característica não-iônica que possui propriedades

biológicas de interesse em estudos contra o câncer, principalmente pela ação inibitória da glicoproteína P (gp-P), internalização celular e apoptose de células cancerígenas (Raspantini *et al.*, 2021; Agrawal *et al.*, 2017; Gaonkar *et al.*, 2017; Mehata *et al.*, 2019).

Outra importante estratégia para melhorar o desempenho de direcionamento e seletividade das nanopartículas, é a conjugação com ligantes modificadores de superfície, como anticorpos monoclonais. O bevacizumabe (Bvz) é um anticorpo monoclonal (mAb) que favorece o direcionamento das nanopartículas para o tumor, devido à super expressão de receptores VEGF (do inglês *Vascular endothelial growth factor*) na superfície das células tumorais do câncer de próstata (Kasten *et al.*, 2013; Saikumar *et al.*, 2017; Ranieri *et al.*, 2006). O Bvz age bloqueando a ligação de VEGF com os seus receptores, inibindo o processo de angiogênese (Sousa *et al.*, 2018).

Deste modo, o estudo visou desenvolver nanopartículas de PCL utilizando o TPGS como tensoativo para encapsulação da Cur e funcionalizá-las com Bvz para avaliar o direcionamento e sinergismo do anticorpo-molécula bioativa empregando ensaios biológicos *in vitro* em linhagens de câncer de próstata. Visto que é reconhecida a atividade antitumoral da Cur frente as células de câncer de próstata e sua ação pode ser melhorada através do processo de nanoencapsulação em nanopartículas de PCL, principalmente utilizando do tensoativo TPGS, que além de contribuir para a estabilidade do sistema e solubilidade da Cur, pode agir inibindo vias de resistência antitumoral e aumentar a internalização celular das nanopartículas. Além disso, a estratégia de funcionalizar as nanopartículas com o Bvz pode direcionar as nanopartículas para o microambiente ambiente, onde ocorre a produção da citocina de VEGF-A, que está intimamente relacionada a angiogênese e metástase (Pacheco *et al.*, 2022; Raspantini *et al.*, 2021; SOUSA *et al.*, 2018; Termini *et al.*, 2020).

6. CONCLUSÕES

As nanopartículas carregadas com Cur contendo TPGS foram desenvolvidas usando o método de nanoprecipitação e otimizadas com base na concentração de TPGS para tamanho, Pdl, potencial zeta e EE. O processo de funcionalização das nanopartículas foi eficiente utilizando o método de carbodiimida, conforme avaliado pelos métodos de BCA, FTIR, NanoDSC e SDS-Page, e mantendo a integridade do anticorpo como observado pelos métodos de dicroísmo circular e espectroscopia de fluorescência.

A Cur-NP e Bvz/Cur-NP apresentaram alta eficiência de encapsulamento, morfologia esférica e estabilidade física por até 90 e 15 dias, respectivamente. Devido às propriedades do fármaco e do sistema alcançados, as nanopartículas promoveram um maior controle das taxas de liberação de Cur por até 48 h.

Na avaliação biológica *in vitro* contra células de câncer de próstata (DU-145 e PC-3), as nanopartículas Cur-NP e Bvz/Cur-NP demonstraram grande potencial de internalização. A Cur apresentou citotoxicidade dependente da dose-tempo, e o processo de nanoencapsulação potencializou sua ação citotóxica em células de câncer de próstata. Para as células endoteliais, HUVEC, as nanopartículas demonstraram maior biocompatibilidade, com baixa redução da viabilidade celular.

Além disso, a Cur-NP, Bvz/Cur-NP e o Blank-NP mostraram redução na adesão celular para ambas as células de câncer de próstata, enfatizando a redução de 62% da Cur-NP para a célula PC-3. A Cur-NP mostrou uma excelente diminuição na migração e invasão para a célula DU-145, e para a célula PC-3, houve apenas atividade antimigratória. Apesar de não ser tão proeminente, a Bvz/Cur-NP, inibe em torno de 50% a migração e invasão para ambas as células de câncer de próstata.

No ensaio de toxicidade *in vivo* utilizando o modelo de *G. mellonella*, a toxicidade observada a Bvz/Cur-NP foi atribuída ao anticorpo acoplado e apesar disso, observou-se que o sistema nanoparticulado protege o organismo da ação tóxica do isolado de Bvz, visto que na mesma concentração se obteve mais 50% de sobrevivência das larvas de *G. mellonella*.

Em conclusão, este estudo mostra que as nanopartículas baseadas em PLC e TPGS melhoraram as atividades biológicas *in vitro* da Cur, destacando seu potencial para aumentar a eficácia da entrega em células tumorais de câncer de próstata. Esta abordagem representa uma opção terapêutica promissora com o uso de novas substâncias associadas à nanotecnologia para o tratamento de câncer de próstata.

REFERÊNCIAS

AGHEBATI-MALEKI, A.; DOLATI, S.; AHMADI, M.; BAGHBANZHADEH, A.; ASADI, M.; FOTOUHI, A.; YOUSEFI, M.; AGHEBATI-MALEKI, L. Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of fancers. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, p. 1962–1972, 2020. Doi: 10.1002/Jcp.29126.

AGRAWAL, P.; SINGH, R. P.; SONALI; KUMARI, L.; SHARMA, G.; KOCH, B.; RAJESH, C. V.; MEHATA, A. K.; SINGH, S.; PANDEY, B. L.; MUTHU, M. S. TPGS-chitosan cross-linked targeted nanoparticles for effective brain cancer therapy. **Materials Science and Engineering: C**, v. 74, P. 167–176, 2017. Doi: 10.1016/J.Msec.2017.02.008.

AMEKYEYEH, H.; ALKHADER, E.; SABRA, R.; BILLA, N. Prospects of curcumin nanoformulations in cancer management. **Molecules**, v. 27, p. 361-390, 2022. Doi: 10.3390/Molecules27020361.

ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 899, De 29 De Maio De 2003**. RDC 899/2003: Regulamento Técnico Para Fabricação De Produtos De Uso Em Serviços De Saúde. Brasília, DF. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html

ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 166, De 25 De Julho De 2017**. RDC 166/2017: Dispõe Sobre A Validação De Métodos Analíticos E Dá Outras Providências. Brasília, DF. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2017/rdc0166_24_07_2017.pdf

ARYA, A.; AHMAD, H.; KHANDELWAL, K.; AGRAWAL, S.; DWIVEDI, A. K. Novel multifunctional nanocarrier-mediated codelivery for targeting and treatment of prostate cancer. In: Grumezescu, A. M. **Nanomaterials for Drug Delivery and Therapy**. Romania: Elsevier, 2019, p. 185–224. Doi 10.1016/B978-0-12-816505-8.00008-4.

AZIZI, M.; AZIMZADEH, M.; AFZALI, M.; ALAFZADEH, M.; MIRHOSSEINI, S. Characterization and optimization of using calendula officinalis extract in fabrication of polycaprolactone-gelatin electrospun nanofibers for wound dressing applications. **Journal of Advanced Materials and Processing**, v. 2, p. 34–46, 2018.

BACI, D.; BRUNO, A.; CASCINI, C.; GALLAZZI, M.; MORTARA, L.; SESSA, F.; PELOSI, G.; ALBINI, A.; NOONAN, D. M. Acetyl-L-carnitine downregulates invasion

(CXCR4/CXCL12, MMP-9) and angiogenesis (VEGF, CXCL8) pathways in prostate cancer cells: rationale for prevention and interception strategies. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**, v. 38, 2019. Doi: 10.1186/S13046-019-1461-Z.

BAIÃO, A.; SOUSA, F.; OLIVEIRA, A. V.; OLIVEIRA, C.; SARMENTO, B. effective intracellular delivery of bevacizumab via pegylated polymeric nanoparticles targeting the CD44v6 receptor in colon cancer cells. **Biomaterials Science**, v. 8, p. 3720–3729, 2020. Doi: 10.1039/D0bm00556h.

BARROS, M. M.; CASTRO, J.; ARAÚJO, D.; OLIVEIRA, R.; CAMPOS, A. M.; SILVA, S.; OUTOR-MONTEIRO, D.; ALMEIDA, C. Application of DNA aptamers to block enterotoxigenic *Escherichia coli* toxicity in a *Galleria mellonella* larval model. **Frontiers in Chemistry**, v. 12, 2024. Doi: 10.3389/Fchem.2024.1425903.

BENTON, G.; ARNAOUTOVA, I.; GEORGE, J.; KLEINMAN, H. K.; KOBLINSKI, J. Matrigel: from discovery and ecm mimicry to assays and models for cancer research. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 79, p–18, 2014. Doi: 10.1016/J.Addr.2014.06.005.

BERNABEU, E.; HELGUERA, G.; LEGASPI, M. J.; GONZALEZ, L.; HOCHT, C.; TAIRA, C.; CHIAPPETTA, D. A. Paclitaxel-loaded pcl-tpgs nanoparticles: in vitro and in vivo performance compared with Abraxane®. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 43–50, 2014. Doi: 10.1016/J.Colsurfb.2013.07.036.

BOCCCELLINO, M.; AMBROSIO, P.; BALLINI, A.; DE VITO, D.; SCACCO, S.; CANTORE, S.; FEOLA, A.; DI DONATO, M.; QUAGLIUOLO, L.; SCIARRA, A.; GALASSO, G.; CROCETTO, F.; IMBIMBO, C.; BOFFO, S.; DI ZAZZO, E.; DI DOMENICO, M. The role of curcumin in prostate cancer cells and derived spheroids. **Cancers**, v. 14, 2022. Doi: 10.3390/Cancers14143348.

CAMARGO, B. A. F.; SOARES SILVA, D. E.; NORONHA DA SILVA, A.; CAMPOS, D. L.; MACHADO RIBEIRO, T. R.; MIELI, M. J.; BORGES TEIXEIRA ZANATTA, M.; BENTO DA SILVA, P.; PAVAN, F. R.; GALLINA MOREIRA, C.; RESENDE, F. A.; MENEGÁRIO, A. A.; CHORILLI, M.; VIEIRA DE GODOY NETTO, A.; BAUAB, T. M. New silver(i) coordination compound loaded into polymeric nanoparticles as a strategy to improve *in vitro* anti- *Helicobacter pylori* activity. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, p. 2287–2298, 2020. Doi: 10.1021/Acs.Molpharmaceut.9b01264.

CARDOSO, V. M. DE O.; KIRALY, V. T. R.; BONI, F. I.; FERREIRA, N. N.; FERREIRA, L. M. B.; PEREIRA, F. M. V.; BORGES, J. C.; CURY, B. S. F.;

GREMIÃO, M. P. D. Rational design of nanocarriers based on gellan gum/retrograded starch exploiting polyelectrolyte complexation and ionic cross-linking processes: a potential technological platform for oral delivery of bevacizumab. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, 2021. Doi: 10.1016/J.Jddst.2021.102765.

CÉ, R.; SILVA, R. C.; TRENTIN, D. S.; MARCHI, J. G. B. DE; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; MACEDO, A. J.; POHLMANN, A. R. *Galleria mellonella* larvae as an *in vivo* model to evaluate the toxicity of polymeric nanocapsules. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 20, p. 1486–1494, 2019. Doi: 10.1166/Jnn.2020.17170.

CHAMPION, O. L.; TITBALL, R. W.; BATES, S. Standardization of *G. mellonella* larvae to provide reliable and reproducible results in the study of fungal pathogens. **Journal of Fungi**, v. 4, p. 108-119, 2018. Doi: 10.3390/Jof4030108.

CHEN, T.; XING, F.; SUN, Y. Facile fabrication of TPGS-PCL polymeric nanoparticles for paclitaxel delivery to breast cancer: investigation of antiproliferation and apoptosis induction. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 19, 2024. Doi: 10.1080/17458080.2023.2281938.

CHEN, X; WANG, D.; GUO, X.; LI, X.; YE, W.; QI, Y.; GU, W. Curcumin-loaded mpeg-plga nanoparticles attenuates the apoptosis and corticosteroid resistance induced by cigarette smoke extract. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022. Doi: 10.3389/Fphar.2022.824652.

CHEN, X; ZOU, L. Q.; NIU, J.; LIU, W.; PENG, S. F.; LIU, C. M. The stability, sustained release and cellular antioxidant activity of curcumin nanoliposomes. **Molecules**, v. 20, p. 14293–14311, 2015. Doi: 10.3390/Molecules200814293.

CHHABRA, G.; SINGH, C. K.; NDIAYE, M. A.; FEDOROWICZ, S.; MOLOT, A.; AHMAD, N. Prostate cancer chemoprevention by natural agents: clinical evidence and potential implications. **Cancer Letters**, v. 422, p. 9–18, 2018. Doi: 10.1016/J.Canlet.2018.02.025.

CHIRIO, D.; PEIRA, E.; SAPINO, S.; CHINDAMO, G.; OLIARO-BOSSO, S.; ADINOLFI, S.; DIANZANI, C.; BARATTA, F.; GALLARATE, M. A new bevacizumab carrier for intravitreal administration: focus on stability. **Pharmaceutics**, v. 13, 2021. Doi: 10.3390/Pharmaceutics13040560.

CHOUDHURY, H.; GORAIN, B.; PANDEY, M.; KUMBHAR, S. A.; TEKADE, R. K.; IYER, A. K.; KESHARWANI, P. Recent advances in tpgs-based nanoparticles of docetaxel for improved chemotherapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 529, p. 506–522, 2017. Doi: 10.1016/J.Ijpharm.2017.07.018.

DANHIER, F.; FERON, O.; PRÉAT, V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting nanocarriers for anti-cancer drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 148, p. 135–146, 2010. Doi 10.1016/J.Jconrel.2010.08.027.

DANILA, D.; PARTHA, R.; ELROD, D.; LACKEY, M.; CASSCELLS, W.; CONYERS, J. Antibody-labeled liposomes for ct imaging of atherosclerotic plaques: in vitro investigation of an anti-icam antibody-labeled liposome containing iohexol for molecular imaging of atherosclerotic paques via computed tomograghy. **Texas Heart Institute Journal**, v. 36, p. 393–403, 2009.

DE ARAÚJO, J. T. C.; DUARTE, J. L.; DI FILIPPO, L. D.; ARAÚJO, V. H. S.; CARVALHO, G. C.; CHORILLI, M. Nanosystem functionalization strategies for prostate cancer treatment: a review. **Journal of Drug Targeting**, v. 29, p. 808–821, 2021. Doi 10.1080/1061186x.2021.1892121.

DEL PRADO-AUDELO, M. L.; MAGAÑA, J. J.; MEJÍA-CONTRERAS, B. A.; BORBOLLA-JIMÉNEZ, F. V.; GIRALDO-GOMEZ, D. M.; PIÑA-BARBA, M. C.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; LEYVA-GÓMEZ, G. In vitro cell uptake evaluation of curcumin-loaded pcl/f68 nanoparticles for potential application in neuronal diseases. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 52, p. 905–914, 2019. Doi: 10.1016/J.Jddst.2019.05.042.

DHAS, N. L.; IGE, P. P.; KUDARHA, R. R. Design, optimization and in-vitro study of folic acid conjugated-chitosan functionalized plga nanoparticle for delivery of bicalutamide in prostate cancer. **Powder Technology**, v. 283, p. 234–245, 2015. Doi 10.1016/J.Powtec.2015.04.053.

DI FILIPPO, L. D.; LOBATO DUARTE, J.; HOFSTÄTTER AZAMBUJA, J.; ISLER MANCUSO, R.; TAVARES LUIZ, M.; HUGO SOUSA ARAÚJO, V.; DELBONE FIGUEIREDO, I.; BARRETTO-DE-SOUZA, L.; MIGUEL SÁBIO, R.; SASSO-CERRI, E.; MARTINS BAVIERA, A.; CRESTANI, C. C.; TERESINHA OLLALA SAAD, S.; CHORILLI, M. Glioblastoma multiforme targeted delivery of docetaxel using bevacizumab-modified nanostructured lipid carriers impair in vitro cell growth and in vivo tumor progression. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 618, p. 121682-121694, 2022. Doi: 10.1016/J.Ijpharm.2022.121682.

DO, X. H.; HOANG, M. H. T.; VU, A. T.; NGUYEN, L. T.; BUI, D. T. T.; DINH, D. T.; NGUYEN, X. H.; THAN, U. T. T.; MAI, H. T.; TO, T. T.; NGUYEN, T. N. H.; HOANG, N. T. M. Differential cytotoxicity of curcumin-loaded micelles on human tumor and stromal cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 12362-12377, 2022. Doi: 10.3390/ijms232012362.

DU, Y.; LONG, Q.; ZHANG, L.; SHI, Y.; LIU, X.; LI, X.; GUAN, B.; TIAN, Y.; WANG, X.; LI, L.; HE, D. Curcumin inhibits cancer-associated fibroblast-driven prostate cancer invasion through maoa/mtor/hif-1 α signaling. **International Journal of Oncology**, v. 47, p. 2064–2072, 2015. Doi: 10.3892/Ijo.2015.3202.

ELOY, J. O.; RUIZ, A.; DE LIMA, F. T.; PETRILLI, R.; RASPANTINI, G.; NOGUEIRA, K. A. B.; SANTOS, E.; DE OLIVEIRA, C. S.; BORGES, J. C.; MARCHETTI, J. M.; AL-JAMAL, W. T.; CHORILLI, M. EGFR-targeted immunoliposomes efficiently deliver docetaxel to prostate cancer cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 194, p. 111185-111197, 2020. Doi: 10.1016/J.Colsurfb.2020.111185.

FELTRIN, F. DA S.; AGNER, T.; SAYER, C.; LONA, L. M. F. Curcumin encapsulation in functional plga nanoparticles: a promising strategy for cancer therapies. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 300, p. 102582-102618, 2022. Doi: 10.1016/J.Cis.2021.102582.

FERNANDES, M.; O. ELOY, J.; TAVARES LUIZ, M.; RAMOS JUNIOR, S. L.; BORGES, J. C.; RODRÍGUEZ DE LA FUENTE, L.; ORTEGA-DE SAN LUIS, C.; MALDONADO MARCHETTI, J.; SANTOS-MARTINEZ, M. J.; CHORILLI, M. Transferrin-functionalized liposomes for docetaxel delivery to prostate cancer cells. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 611, p. 125806, 2021. Doi: 10.1016/J.Colsurfa.2020.125806.

FERREIRA, L. M. B.; ALONSO, J. D.; KIILL, C. P.; FERREIRA, N. N.; BUZZÁ, H. H.; MARTINS DE GODOI, D. R.; DE BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G.; SERAPHIM, T. V.; BORGES, J. C.; GREMIÃO, M. P. D. Exploiting supramolecular interactions to produce bevacizumab-loaded nanoparticles for potential mucosal delivery. **European Polymer Journal**, v. 103, p. 238–250, 2018. Doi 10.1016/J.Eurpolymj.2018.04.013.

FERREIRA, N. N.; M.B. FERREIRA, L.; MIRANDA-GONÇALVES, V.; REIS, R. M.; SERAPHIM, T. V.; BORGES, J. C.; BALTAZAR, F.; GREMIÃO, M. P. D. Alginate hydrogel improves anti-angiogenic bevacizumab activity in cancer therapy. **European Journal of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, v. 119, p. 271–282, 2017. Doi: 10.1016/J.Ejpb.2017.06.028.

FILIPPE, V.; HAWE, A.; JISKOOT, W. Critical evaluation of nanoparticle tracking analysis (nta) by nanosight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. **Pharmaceutical Research**, v. 27, p. 796–810, 2010. Doi: 10.1007/S11095-010-0073-2.

FONSECA-SANTOS, B.; GREMIÃO, M. P. D.; CHORILLI, M. A simple reversed phase high-performance liquid chromatography (hplc) method for determination of in situ gelling curcumin-loaded liquid crystals in in vitro performance tests. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 1029–1037, 2017. Doi: 10.1016/J.Arabjc.2016.01.014.

FONTANA, F.; RAIMONDI, M.; MARZAGALLI, M.; DI DOMIZIO, A.; LIMONTA, P. Natural compounds in prostate cancer prevention and treatment: mechanisms of action and molecular targets. **Cells**, v. 9, p. 460–491, 2020. Doi: 10.3390/Cells9020460.

GANDAGLIA, G.; LENI, R.; BRAY, F.; FLESHNER, N.; FREEDLAND, S. J.; KIBEL, A.; STATIN, P.; VAN POPPEL, H.; LA VECCHIA, C. Epidemiology and prevention of prostate cancer. **European Urology Oncology**, v. 4, p. 877–892, 2021. Doi: 10.1016/J.Euo.2021.09.006.

GAONKAR, R. H.; GANGULY, S.; DEWANJEE, S.; SINHA, S.; GUPTA, A.; GANGULY, S.; CHATTOPADHYAY, D.; CHATTERJEE DEBNATH, M. Garcinol loaded vitamin E TPGS emulsified PLGA nanoparticles: preparation, physicochemical characterization, in vitro and in vivo studies. **Scientific Reports**, v. 7, p. 530-544, 2017. Doi: 10.1038/S41598-017-00696-6.

GIACOMELI, R.; GUERRA TEIXEIRA, F. E.; CARVALHO, F. B.; PACHECO, C. O.; MARTINS PARISOTTO, A. J.; FUNGUETTO RIBEIRO, A. C.; GOMES DE GOMES, M.; HAAS, S. E. Curcumin-loaded poly(ϵ -caprolactone) lipid-core nanocapsules: evaluation of fetal and maternal toxicity. **Food And Chemical Toxicology**, v. 144, p. 111625-111633, 2020. Doi: 10.1016/J.Fct.2020.111625.

GROSS, J.; SAYLE, S.; KAROW, A. R.; BAKOWSKY, U.; GARIDEL, P. Nanoparticle tracking analysis of particle size and concentration detection in suspensions of polymer and protein samples: influence of experimental and data evaluation parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 104, p. 30–41, 2016. Doi: 10.1016/J.Ejpb.2016.04.013.

GROZESCU, T.; POPA, F. Prostate cancer between prognosis and adequate/proper therapy. **Journal of Medicine and Life**, v. 10, p. 5–12, 2017.

GUNEY ESKILER, G.; SAHIN, E.; DEVECI OZKAN, A.; CILINGIR KAYA, O. T.; KALELI, S. Curcumin induces DNA damage by mediating homologous recombination mechanism in triple negative breast cancer. **Nutrition and Cancer**, v. 72, p. 1057–1066, 2020. Doi: 10.1080/01635581.2019.1670216.

GUO, F.; FU, Q.; JIN, C.; JI, X.; YAN, Q.; YANG, Q.; WU, D.; GAO, Y.; HONG, W.; LI, A.; YANG, G. Dual functional matrix metalloproteinase-responsive curcumin-loaded nanoparticles for tumor-targeted treatment. **Drug Delivery**, v. 26, p. 1027–1038, 2019. Doi: 10.1080/10717544.2019.1676843.

GUO, Y.; LUO, J.; TAN, S.; OTIENO, B. O.; ZHANG, Z. The applications of vitamin E TPGS in drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 175–186, 2013. Doi 10.1016/J.Ejps.2013.02.006.

GUPTA, T.; SINGH, J.; KAUR, S.; SANDHU, S.; SINGH, G.; KAUR, I. P. Enhancing bioavailability and stability of curcumin using solid lipid nanoparticles (clen): a covenant for its effectiveness. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 879-893, 2020. Doi: 10.3389/Fbioe.2020.00879.

HOSSEINI, A.; RASMI, Y.; RAHBARGHAZI, R.; ARAMWIT, P.; DAEIHASSANI, B.; SABOORY, E. Curcumin modulates the angiogenic potential of human endothelial cells via FAK/P-38 MAPK signaling pathway. **Gene**, v. 688, p. 7–12, 2019. Doi: 10.1016/J.Gene.2018.11.062.

HOU, J.; CI, H.; WANG, P.; WANG, C.; LV, B.; MIAO, L.; YOU, G. Nanoparticle tracking analysis versus dynamic light scattering: case study on the effect of Ca^{2+} and alginate on the aggregation of cerium oxide nanoparticles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 360, p. 319–328, 2018. Doi: 10.1016/J.Jhazmat.2018.08.010.

HUSEYNOV, E. M. FTIR spectroscopy of zrc nanoparticles under the gamma radiation. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 286, p. 122032-122036, 2023. Doi: 10.1016/J.Saa.2022.122032.

ICH. International Council for Harmonisation of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use. Ich Harmonised Guideline: **Validation of Analytical Procedures Q2(R2)**. European Medicines Agency, 2022. Disponível em: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q2-R2_Document_Step2_Guideline_2022_0324.pdf

IOANNIDOU, E.; MOSCHETTA, M.; SHAH, S.; PARKER, J. S.; OZTURK, A.; PAPPAS-GOGOS, G.; SHERIFF, M.; RASSY, E.; BOUSSIOS, S. Molecular sciences angiogenesis and anti-angiogenic treatment in prostate cancer: mechanisms of action and molecular targets. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 9926–9945, 2021. Doi 10.3390/ijms.

ISSAAD, F. Z.; TOMÉ, L. I. N.; MARQUES, N. V.; MOUATS, C.; DICULESCU, V. C.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Bevacizumab anticancer monoclonal antibody: native and denatured redox behaviour. **Electrochimica Acta**, v. 206, p. 246–253, 2016. Doi: 10.1016/J.Electacta.2016.04.097.

JAMES, A. E.; DRISKELL, J. D. Monitoring gold nanoparticle conjugation and analysis of biomolecular binding with nanoparticle tracking analysis (NTA) and dynamic light scattering (DLS). **Analyst**, v. 138, p. 1212–1218, 2013. Doi: 10.1039/C2an36467k.

JIANG, W.; HE, X.; FANG, H.; ZHOU, X.; RAN, H.; GUO, D. Novel gadopentetic acid-doped silica nanoparticles conjugated with ypsma-1 targeting prostate cancer for mr imaging: an in vitro study. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 499, p. 202–208, 2018. Doi 10.1016/J.Bbrc.2018.03.124.

JORDAN, B. C.; MOCK, C. D.; THILAGAVATHI, R.; SELVAM, C. Molecular mechanisms of curcumin and its semisynthetic analogues in prostate cancer prevention and treatment. **Life Sciences**, v. 152, p. 135–144, 2016. Doi: 10.1016/J.Lfs.2016.03.036.

KAJA, S.; HILGENBERG, J. D.; EVERETT, E.; OLITSKY, S. E.; GOSSAGE, J.; KOULEN, P. Effects of dilution and prolonged storage with preservative in a polyethylene container on bevacizumab (Avastin™) for topical delivery as a nasal spray in anti-hereditary hemorrhagic telangiectasia and related therapies. **Human Antibodies**, v. 20, p. 95–101, 2011. Doi: 10.3233/Hab-2011-0244.

KAMATH, M. S; RAO, S. K.; D., J.; K., S.; N., K.; V., G.; P., S.; S., S. P. Melatonin delivery from pcl scaffold enhances glycosaminoglycans deposition in human chondrocytes – bioactive scaffold model for cartilage regeneration. **Process Biochemistry**, v. 99, p. 36–47, 2020. Doi 10.1016/J.Procbio.2020.08.015.

KAMBLE, R.; PURANIK, A.; NARVEKAR, A.; DANDEKAR, P.; JAIN, R. Characterization of outcomes of amino acid modifications using a combinatorial approach to reveal physical and structural perturbations: a case study using trastuzumab biosimilar. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies**

in the **Biomedical and Life Sciences**, v. 1209, p. 123430-123438, 2022. Doi: 10.1016/J.Jchromb.2022.123430.

KASINATHAN, N.; AMIRTHALINGAM, M.; REDDY, N. D.; JAGANI, H. V.; VOLETY, S. M.; RAO, J. V. In-situ implant containing pcl-curcumin nanoparticles developed using design of experiments. **Drug Delivery**, v. 23, p. 1017–1025, 2016. Doi: 10.3109/10717544.2014.927021.

KIM, M. G.; JO, S. D.; YHEE, J. Y.; LEE, B. S.; LEE, S. J.; PARK, S. G.; KANG, S. W.; KIM, S. H.; JEONG, J. H. Synergistic anti-tumor effects of bevacizumab and tumor targeted polymerized vegf sirna nanoparticles. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 489, p. 35–41, 2017. Doi 10.1016/J.Bbrc.2017.05.103.

KUMAR MEHATA, A.; BHARTI, S.; SINGH, P.; VISWANADH, M. K.; KUMARI, L.; AGRAWAL, P.; SINGH, S.; KOCH, B.; MUTHU, M. S. trastuzumab decorated TPGS-g-chitosan nanoparticles for targeted breast cancer therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 173, p. 366–377, 2019. Doi 10.1016/J.Colsurfb.2018.10.007.

KUMBHAR, P. S.; NADAF, S.; MANJAPPA, A. S.; JHA, N. K.; SHINDE, S. S.; CHOPADE, S. S.; SHETE, A. S.; DISOUZA, J. I.; SAMBAMOORTHY, U.; KUMAR, S. A. D- α -tocopheryl polyethylene glycol succinate: a review of multifarious applications in nanomedicines. **Opennano**, v. 6, p. 100036-100049, 2022. Doi: 10.1016/J.Onano.2022.100036.

KUTTY, R. V.; FENG, S. S. Cetuximab conjugated vitamin E TPGS micelles for targeted delivery of docetaxel for treatment of triple negative breast cancers. **Biomaterials**, v. 34, p. 10160–10171, 2013. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2013.09.043.

LEE, N. K.; WANG, C. P. J.; LIM, J.; PARK, W.; KWON, H. K.; KIM, S. N.; KIM, T. H.; PARK, C. G. Impact of the conjugation of antibodies to the surfaces of polymer nanoparticles on the immune cell targeting abilities. **Nano Convergence**, v. 8, p. 24-35, 2021. Doi: 10.1186/S40580-021-00274-7.

LEE, S. G.; JEONG, J. H.; LEE, K. M.; JEONG, K. H.; YANG, H.; KIM, M.; JUNG, H.; LEE, S.; CHOI, Y. W. Nanostructured lipid carrier-loaded hyaluronic acid microneedles for controlled dermal delivery of a lipophilic molecule. **International Journal of Nanomedicine**, Vol. 9, P. 289–299, 2013. Doi: 10.2147/Ijn.S54529.

LEE, S. J.; YOOK, S.; YHEE, J. Y.; YOON, H. Y.; KIM, M. G.; KU, S. H.; KIM, S. H.; PARK, J. H.; JEONG, J. H.; KWON, I. C.; LEE, S.; LEE, H.; KIM, K. Co-delivery of vegf and bcl-2 dual-targeted sirna polymer using a single nanoparticle for synergistic anti-cancer effects in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 220, p. 631–641, 2015. Doi 10.1016/J.Jconrel.2015.08.032.

LI, X.-Y.; ZHAO, Y.; SUN, M.-G.; SHI, J.-F.; JU, R.-J.; ZHANG, C.-X.; LI, X.-T.; ZHAO, W.-Y.; MU, L.-M.; ZENG, F.; LOU, J.-N.; LU, W. L. Multifunctional liposomes loaded with paclitaxel and artemether for treatment of invasive brain glioma. **Biomaterials**, v. 35, p. 5591–5604, 2014. Doi 10.1016/J.Biomaterials.2014.03.049.

LIBBY, J. R.; ROYCE, H.; WALKER, S. R.; LI, L. The role of extracellular matrix in angiogenesis: beyond adhesion and structure. **Biomaterials and Biosystems**, v. 15, p. 100097-100107, 2024. Doi: 10.1016/J.Bbiosy.2024.100097.

LIN, J.; KELLY, W. K. Targeting angiogenesis as a promising modality for the treatment of prostate cancer. **Urologic Clinics of North America**, v. 39, p. 547–560, 2012. Doi 10.1016/J.Ucl.2012.07.010.

LIN, R.; HUANG, J.; WANG, L.; LI, Y.; LIPOWSKA, M.; WU, H.; YANG, J.; MAO, H. Bevacizumab and near infrared probe conjugated iron oxide nanoparticles for vascular endothelial growth factor targeted and optical imaging. **Biomaterials Science**, v. 6, p. 1517–1525, 2018. Doi: 10.1039/C8bm00225h.

LIU, J.; ZHANG, X.; LI, G.; XU, F.; LI, S.; TENG, L.; LI, Y.; SUN, F. Anti-angiogenic activity of bevacizumab-bearing dexamethasone-loaded plga nanoparticles for potential intravitreal applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 8819–8834, 2019. Doi: 10.2147/Ijn.S217038.

LUIZ, M. T.; DUTRA, J. A. P.; RIBEIRO, T. DE C.; CARVALHO, G. C.; SÁBIO, R. M.; MARCHETTI, J. M.; CHORILLI, M. Folic acid-modified curcumin-loaded liposomes for breast cancer therapy. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 645, 2022. Doi: 10.1016/J.Colsurfa.2022.128935.

MALEKI DIZAJ, S.; ALIPOUR, M.; DALIR ABDOLAHINIA, E.; AHMADIAN, E.; EFTEKHARI, A.; FOROUHANDEH, H.; RAHBAR SAADAT, Y.; SHARIFI, S.; ZUNUNI VAHED, S. Curcumin nanoformulations: beneficial nanomedicine against cancer. **Phytotherapy Research**, v. 36, p. 1156–1181, 2022. Doi: 10.1002/Ptr.7389.

MALEQUE, M.; HASAN, M. R.; HOSSEN, F.; SAFI, S. Development and validation of a simple uv spectrophotometric method for the determination of levofloxacin both in

bulk and marketed dosage formulations. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 2, p. 454–457, 2012. Doi 10.1016/J.Jpha.2012.06.004.

MANJILI, H. K.; SHARAFI, A.; DANAFAR, H.; HOSSEINI, M.; RAMAZANI, A.; GHASEMI, M. H. Poly(caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(caprolactone) (pcl-peg-pcl) nanoparticles: a valuable and efficient system for in vitro and in vivo delivery of curcumin. **RSC Advances**, v. 6, p. 14403–14415, 2016. Doi: 10.1039/C5ra24942b.

MARENA, G. D.; RUIZ-GAITÁN, A.; GARCIA-BUSTOS, V.; TORMO-MAS, M. Á.; PÉREZ-ROYO, J. M.; LÓPEZ, A.; BERNARBE, P.; PÉREZ RUIZ, M. D.; ZARAGOZA MACIAN, L.; VICENTE SAEZ, C.; AVALOS MANSILLA, A.; GÓMEZ, E. V.; CARVALHO, G. C.; BAUAB, T. M.; CHORILLI, M.; PEMÁN, J. Nanoemulsion increases the antifungal activity of amphotericin b against four candida auris clades: in vitro and in vivo assays. **Microorganisms**, v. 11, 2023. Doi: 10.3390/Microorganisms11071626.

MAVROU, A.; OLTEAN, S. SrpK1 inhibition in prostate cancer: a novel anti-angiogenic treatment through modulation of vegf alternative splicing. **Pharmacological Research**, v. 107, p. 276–281, 2016. Doi 10.1016/J.Phrs.2016.03.013.

MAZZARINO, L.; LOCH-NECKEL, G.; DOS SANTOS BUBNIAK, L.; MAZZUCCO, S.; SANTOS-SILVA, M. C.; BORSALI, R.; LEMOS-SENNA, E. Curcumin-loaded chitosan-coated nanoparticles as a new approach for the local treatment of oral cavity cancer. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, p. 781–791, 2015. Doi: 10.1166/Jnn.2015.9189.

MCCOMISKEY, K. P. M.; TAJBER, L. Comparison of particle size methodology and assessment of nanoparticle tracking analysis (nta) as a tool for live monitoring of crystallisation pathways. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 130, p. 314–326, 2018. Doi: 10.1016/J.Ejpb.2018.07.012.

MELEGH, Z.; OLTEAN, S. Targeting angiogenesis in prostate cancer. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 20, p. 2676, 2019. Doi 10.3390/Ijms20112676.

MIMEAULT, M.; BATRA, S. K. Animal models relevant to human prostate carcinogenesis underlining the critical implication of prostatic stem/progenitor cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1816, p. 25–37, 2011. Doi 10.1016/J.Bbcan.2011.03.001.

MIRZAEI, A.; JAHANSHAHI, F.; KHATAMI, F.; REIS, L. O.; AGHAMIR, S. M. K. Human prostate cancer cell epithelial-to-mesenchymal transition as a novel target of arsenic trioxide and curcumin therapeutic approach. **Tissue And Cell**, v. 76, p. 101805-101815, 2022. Doi: 10.1016/J.Tice.2022.101805.

MISHRA, B.; PATEL, B. B.; TIWARI, S. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, p. 9–24, 2010. Doi 10.1016/J.Nano.2009.04.008.

MOBALLEGH NASERY, M.; VARZANDEH, M.; PAHLAVANNESHAN, S.; MOHAMADI, N.; SARHADI, S.; SAMAREH FEKRI, H.; MOHAMMADINEJAD, R.; AHN, K. S. Curcumin: a potential therapeutic natural product for adenocarcinomas. **Phytochemistry Letters**, v. 49, p. 45–55, 2022. Doi: 10.1016/J.Phytol.2022.02.013.

MOHD-ZAHID, M. H.; ZULKIFLI, S. N.; CHE ABDULLAH, C. A.; LIM, J.; FAKURAZI, S.; WONG, K. K.; ZAKARIA, A. D.; ISMAIL, N.; USKOKOVIĆ, V.; MOHAMUD, R.; ISKANDAR, Z. A. Gold Nanoparticles conjugated with anti-cd133 monoclonal antibody and 5-fluorouracil chemotherapeutic agent as nanocarriers for cancer cell targeting. **RSC Advances**, v. 11, p. 16131–16141, 2021. Doi: 10.1039/D1ra01093j.

MU, L.; SEOW, P. H. Application of tpgs in polymeric nanoparticulate drug delivery system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 47, p. 90–97, 2006. Doi: 10.1016/J.Colsurfb.2005.08.016.

MUTHU, M. S.; KUTTY, R. V.; LUO, Z.; XIE, J.; FENG, S. S. Theranostic vitamin E TPGS micelles of transferrin conjugation for targeted co-delivery of docetaxel and ultra bright gold nanoclusters. **Biomaterials**, v. 39, p. 234–248, 2015. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2014.11.008.

NAKSURIYA, O.; OKONOGI, S.; SCHIFFELERS, R. M.; HENNINK, W. E. Curcumin nanoformulations: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. **Biomaterials**, v. 35, p. 3365–3383, 2014. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2013.12.090.

NASSIR, A. M.; IBRAHIM, I. A. A.; MD, S.; WARIS, M.; TANUJA; AIN, M. R.; AHMAD, I.; SHAHZAD, N. Surface functionalized folate targeted oleuropein nano-liposomes for prostate tumor targeting: in vitro and in vivo activity. **Life Sciences**, v. 220, p. 136–146, 2019. Doi 10.1016/J.Lfs.2019.01.053.

NGUYEN, H. N.; HA, P. T.; NGUYEN, A. S.; NGUYEN, D. T.; DO, H. D.; THI, Q. N.; THI, M. N. H. Curcumin as fluorescent probe for directly monitoring in vitro uptake of curcumin combined paclitaxel loaded PLA-TPGS nanoparticles. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 7, p. 025001, 2016. Doi 10.1088/2043-6262/7/2/025001.

NGUYEN-NIELSEN, M.; BORRE, M. Diagnostic and therapeutic strategies for prostate cancer. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 46, p. 484–490, 2016. Doi 10.1053/J.Semnuclmed.2016.07.002.

OCZKOWSKI, M.; DZIENDZIKOWSKA, K.; PASTERNAK-WINIARSKA, A.; WŁODAREK, D.; GROMADZKA-OSTROWSKA, J. Dietary factors and prostate cancer development, progression, and reduction. **Nutrients**, v. 13, p. 496, 2021. Doi 10.3390/Nu13020496.

ORTHOLAN, C.; DURIVAUT, J.; HANNOUN-LEVI, J. M.; GUYOT, M.; BOURCIER, C.; AMBROSETTI, D.; SAFE, S.; PAGS, G. Bevacizumab/docetaxel association is more efficient than docetaxel alone in reducing breast and prostate cancer cell growth: a new paradigm for understanding the therapeutic effect of combined treatment. **European Journal of Cancer**, v. 46, p. 3022–3036, 2010. Doi: 10.1016/J.Ejca.2010.07.021.

OZTURK, S. Demonstration of the efficacy of curcumin on carbapenem-resistant pseudomonas aeruginosa with galleria mellonella larvae model. **Archives of Microbiology**, v. 204, p. 524-536, 2022. Doi: 10.1007/S00203-022-03135-X.

PACHECO, C. DE O.; DE GOMES, M. G.; DA SILVA NETO, M. R.; PARISOTTO, A. J. M.; DOS SANTOS, R. B.; MACIEL, T. R.; RIBEIRO, A. C. F.; GIACOMELI, R.; HAAS, S. E. Surface-functionalized curcumin-loaded polymeric nanocapsules could block apomorphine-induced behavioral changes in rats. **Pharmacological Reports**, v. 74, p. 135–147, 2022. Doi 10.1007/S43440-021-00331-2.

PALLARES, J.; ROJO, F.; IRIARTE, J.; MOROTE, J.; ARMADANS, L. I.; TORRES, I. DE. study of micro vessel density and the expression of the angiogenic factors VEGF, BFGF and the receptors flt-1 and flk-1 in benign, premalignant and malignant prostate tissues. **Histology and Histopathology**, v. 21, p. 857–865, 2006. Doi: 10.14670/Hh-21.857.

PAN, J.; FENG, S. S. Targeting and imaging cancer cells by folate-decorated, quantum dots (qds)- loaded nanoparticles of biodegradable polymers. **Biomaterials**, v. 30, p. 1176–1183, 2009. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2008.10.039.

PAN, L.; SHA, J.; LIN, W.; WANG, Y.; BIAN, T. curcumin inhibits prostate cancer progression by regulating the mir-30a-5p/pclaf axis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 22, p. 969-977, 2021. Doi: 10.3892/Etm.2021.10401.

PÉREZ-HERRERO, E.; FERNÁNDEZ-MEDARDE, A. Advanced targeted therapies in cancer: drug nanocarriers, the future of chemotherapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 52–79, 2015. Doi 10.1016/J.Ejpb.2015.03.018.

PONTES-QUERO, G. M.; BENITO-GARZÓN, L.; PÉREZ CANO, J.; AGUILAR, M. R.; VÁZQUEZ-LASA, B. Amphiphilic polymeric nanoparticles encapsulating curcumin: antioxidant, anti-inflammatory and biocompatibility studies. **Materials Science and Engineering C**, v. 121, p. 111793-111809, 2021. Doi: 10.1016/J.Msec.2020.111793.

POURTALEBI JAHROMI, L.; GHAZALI, M.; ASHRAFI, H.; AZADI, A. A comparison of models for the analysis of the kinetics of drug release from plga-based nanoparticles. **Heliyon**, v. 6, p. E03451-03460, 2020. Doi: 10.1016/J.Heliyon.2020.E03451.

PRAJAPATI, S. K.; JAIN, A.; JAIN, A.; JAIN, S. Biodegradable polymers and constructs: a novel approach in drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 120, p. 109191, 2019. Doi 10.1016/J.Eurpolymj.2019.08.018.

RANIERI, G.; PATRUNO, R.; RUGGIERI, E.; MONTEMURRO, S.; VALERIO, P.; RIBATTI, D. Vascular endothelial growth factor (VEGF) as a target of bevacizumab in cancer: from biology to the clinic. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1845–1857, 2006. Doi: 0929-8673/06.

RASPANTINI, G. L. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de pcl-tpgs contendo docetaxel visando terapia do câncer de próstata**. 2018. Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

RASPANTINI, G. L.; LUIZ, M. T.; ABRIATA, J. P.; ELOY, J. DE O.; VAIDERGORN, M. M.; EMERY, F. DA S.; MARCHETTI, J. M. PCL-TPGS polymeric nanoparticles for docetaxel delivery to prostate cancer: development, physicochemical and biological characterization. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 627, p. 127144-127155, 2021. Doi: 10.1016/J.Colsurfa.2021.127144.

RATHOD, S.; BAHADUR, P.; TIWARI, S. Nanocarriers based on vitamin E-TPGS: design principle and molecular insights into improving the efficacy of anticancer drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 592, p. 120045-120057, 2021. Doi: 10.1016/J.Ijpharm.2020.120045.

RAYAPROLU, B. M.; STROM, J. G. Design and evaluation of d- α tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate emulsified poly- ϵ -caprolactone nanoparticles for protein/peptide drug delivery. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, p. 1046–1052, 2013. Doi: 10.3109/03639045.2012.699069.

RIBEIRO, L. N. D. M.; COUTO, V. M.; FRACETO, L. F.; DE PAULA, E. Use of nanoparticle concentration as a tool to understand the structural properties of colloids. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1–8, 2018. Doi: 10.1038/S41598-017-18573-7.

RODRIGUEZ, A. F. R.; DOS SANTOS, C. C.; LÜDTKE-BUZUG, K.; BAKENECKER, A. C.; CHAVES, Y. O.; MARIÚBA, L. A. M.; BRANDT, J. V.; AMANTEA, B. E.; DE SANTANA, R. C.; MARQUES, R. F. C.; JAFELICCI, M.; MORALES, M. A. Evaluation of antiplasmodial activity and cytotoxicity assays of amino acids functionalized magnetite nanoparticles: hyperthermia and flow cytometry applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 125, p. 112097-112108, 2021. Doi: 10.1016/J.Msec.2021.112097.

RUTZ, J.; BENCHELLAL, A.; KASSABRA, W.; MAXEINER, S.; BERND, A.; KIPPENBERGER, S.; ZÖLLER, N.; CHUN, F. K. H.; JUENGEL, E.; BLAHETA, R. A. Growth, Proliferation and metastasis of prostate cancer cells is blocked by low-dose curcumin in combination with light irradiation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 9966-9982, 2021. Doi: 10.3390/Ijms22189966.

SAADATI, R.; DADASHZADEH, S. Marked effects of combined TPGS and PVA emulsifiers in the fabrication of etoposide-loaded PLGA-PEG nanoparticles: in vitro and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 464, p. 135–144, 2014. Doi: 10.1016/J.Ijpharm.2014.01.014.

SANNA, V.; SECHI, M. Nanoparticle therapeutics for prostate cancer treatment. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, p. S31–S36, 2012. Doi 10.1016/J.Nano.2012.05.009.

SANNA, V.; SIDDIQUI, I. A.; SECHI, M.; MUKHTAR, H. Nanoformulation of natural products for prevention and therapy of prostate cancer. **Cancer Letters**, v. 334, p. 142–151, 2013. Doi 10.1016/J.Canlet.2012.11.037.

SARKAR, C.; GOSWAMI, S.; BASU, S.; CHAKROBORTY, D. Angiogenesis inhibition in prostate cancer: an update. **Cancers**, v. 12, p. 1–21, 2020. Doi: 10.3390/Cancers12092382.

SASIKUMAR, A.; KAMALASANAN, K. Nanomedicine for prostate cancer using nanoemulsion: a review. **Journal of Controlled Release**, v. 260, p. 111–123, 2017. Doi 10.1016/J.Jconrel.2017.06.001.

SEKHOACHA, M.; RIET, K.; MOTLOUNG, P.; GUMENKU, L.; ADEGOKE, A.; MASHELE, S. Prostate cancer review: genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. **Molecules**, v. 27, p. 5730-5763, 2022. Doi: 10.3390/Molecules27175730.

SENGOTTIYAN, S.; MIKOLAJCZYK, A.; JAGIEŁŁO, K.; SWIROG, M.; PUZYN, T. Core, coating, or corona? the importance of considering protein coronas in nano-qspr modeling of zeta potential. **Acs Nano**, v. 17, p. 1989–1997, 2023. Doi: 10.1021/Acsnano.2c06977.

SHA, J.; LI, J.; WANG, W.; PAN, L.; CHENG, J.; LI, L.; ZHAO, H.; LIN, W. Curcumin induces G0/G1 arrest and apoptosis in hormone independent prostate cancer DU-145 cells by down regulating notch signaling. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 84, p. 177–184, 2016. Doi: 10.1016/J.Biopha.2016.09.037.

SILVA, S. M.; SINGULANI, J. DE L.; FERNANDES, L. DE S.; MIGLIATO, K. F.; MENDES-GIANNINI, M. J. S.; FUSCO-ALMEIDA, A. M. Exploring *Galleria mellonella* as a novel model for evaluating permeation and toxicity of natural compounds. **Public Health and Toxicology**, v. 4, 2024. Doi 10.18332/Pht/197414

SINGH, A.; MHASKE, A.; SHUKLA, R. Fabrication of TPGS-grafted polyamidoamine dendrimer for enhanced piperine brain delivery and pharmacokinetics. **AAPS Pharmscitech**, v. 23, p. 236-250, 2022. Doi: 10.1208/S12249-022-02393-8.

SINGH, S. K.; KUMAR, D.; MALANI, H.; RATHORE, A. S. LC–MS based case-by-case analysis of the impact of acidic and basic charge variants of bevacizumab on stability and biological activity. **Scientific Reports**, v. 11, p. 2487-2503, 2021. Doi: 10.1038/S41598-020-79541-2.

ŚLIWIŃSKA-HILL, U. Interaction of imatinib mesylate with human serum transferrin: the comparative spectroscopic studies. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 173, p. 468–475, 2017. Doi: 10.1016/J.Saa.2016.09.041.

SONALI; AGRAWAL, P.; SINGH, R. P.; RAJESH, C. V.; SINGH, S.; VIJAYAKUMAR, M. R.; PANDEY, B. L.; MUTHU, M. S. Transferrin receptor-targeted vitamin e tpgs micelles for brain cancer therapy: preparation, characterization and brain distribution in rats. **Drug Delivery**, v. 23, p. 1788–1798, 2016. Doi: 10.3109/10717544.2015.1094681.

SOUSA, F.; CRUZ, A.; FONTE, P.; PINTO, I. M.; NEVES-PETERSEN, M. T.; SARMENTO, B. A New paradigm for antiangiogenic therapy through controlled release of bevacizumab from plga nanoparticles. **Scientific Reports**, v. 7, p. 3736-3749, 2017. Doi: 10.1038/S41598-017-03959-4.

SOUSA, F.; CRUZ, A.; PINTO, I. M.; SARMENTO, B. Nanoparticles provide long-term stability of bevacizumab preserving its antiangiogenic activity. **Acta Biomaterialia**, v. 78, p. 285–295, 2018. Doi: 10.1016/J.Actbio.2018.07.040.

SOUSA, F.; GONÇALVES, V. M. F.; SARMENTO, B. Development and validation of a rapid reversed-phase hplc method for the quantification of monoclonal antibody bevacizumab from polyester-based nanoparticles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 142, p. 171–177, 2017. Doi: 10.1016/J.Jpba.2017.05.015.

SOUSA, F.; SARMENTO, B.; NEVES-PETERSEN, M. T. Biophysical study of bevacizumab structure and bioactivity under thermal and ph-stresses. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 127–136, 2017. Doi: 10.1016/J.Ejps.2017.05.019.

SUN, Y.; YU, B.; WANG, G.; WU, Y.; ZHANG, X.; CHEN, Y.; TANG, S.; YUAN, Y.; LEE, R. J.; TENG, L.; XU, S. Enhanced antitumor efficacy of vitamin e tpgs-emulsified plga nanoparticles for delivery of paclitaxel. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 123, p. 716–723, 2014. Doi: 10.1016/J.Colsurfb.2014.10.007.

TABANELLI, R.; BROGI, S.; CALDERONE, V. Improving curcumin bioavailability: current strategies and future perspectives. **Pharmaceutics**, v. 13, p.1715-1752, 2021. Doi: 10.3390/Pharmaceutics13101715.

TANAUDOMMONGKON, I.; TANAUDOMMONGKON, A.; PRATHIPATI, P.; NGUYEN, J. T.; KELLER, E. T.; DONG, X. Curcumin nanoparticles and their cytotoxicity in docetaxel-resistant castration-resistant prostate cancer cells. **Biomedicines**, v. 8, p. 253-266, 2020. Doi: 10.3390/Biomedicines8080253.

TERMINI, D.; DEN HARTOGH, D. J.; JAGLANIAN, A.; TSIANI, E. Curcumin against prostate cancer: current evidence. **Biomolecules**, v. 10, p. 1536, 2020. Doi 10.3390/Biom10111536.

THANGAVEL, S.; YOSHITOMI, T.; SAKHARKAR, M. K.; NAGASAKI, Y. Redox nanoparticles inhibit curcumin oxidative degradation and enhance its therapeutic effect on prostate cancer. **Journal of Controlled Release**, v. 209, p. 110–119, 2015. Doi: 10.1016/J.Jconrel.2015.04.025.

VASCONCELOS, A. G.; VALIM, M. O.; AMORIM, A. G. N.; DO AMARAL, C. P.; DE ALMEIDA, M. P.; BORGES, T. K. S.; SOCODATO, R.; PORTUGAL, C. C.; BRAND, G. D.; MATTOS, J. S. C.; RELVAS, J.; PLÁCIDO, A.; EATON, P.; RAMOS, D. A. R.; KÜCKELHAUS, S. A. S.; LEITE, J. R. S. A. Cytotoxic activity of poly- ϵ -caprolactone lipid-core nanocapsules loaded with lycopene-rich extract from red guava (*Psidium guajava* L.) on breast cancer cells. **Food Research International**, v. 136, p. 109548–109561, 2020. Doi: 10.1016/J.Foodres.2020.109548.

VÁSQUEZ MARCANO, R. G. DEL J.; TOMINAGA, T. T.; KHALIL, N. M.; PEDROSO, L. S.; MAINARDES, R. M. Chitosan functionalized poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles for amphotericin b delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 345–354, 2018. Doi: 10.1016/J.Carbpol.2018.08.142.

WANG, K.; GUO, L.; XIONG, W.; SUN, L.; ZHENG, Y. Nanoparticles of star-like copolymer mannitol-functionalized poly(lactide)-vitamin E TPGS for delivery of paclitaxel to prostate cancer cells. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 29, p. 329–340, 2014. Doi: 10.1177/0885328214527486.

WANG, N.; ZHANG, Y.; LIU, H.; WANG, A.; REN, T.; GOU, J.; ZHANG, Y.; YIN, T.; HE, H.; TANG, X. Toxicity reduction and efficacy promotion of doxorubicin in the treatment of breast tumors assisted by enhanced oral absorption of curcumin-loaded lipid-polyester mixed nanoparticles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, p. 4533–4547, 2020. Doi: 10.1021/Acs.Molpharmaceut.0c00718.

WANG, Z.; GAO, D.; FUKUSHIMA, H.; INUZUKA, H.; LIU, P.; WAN, L.; SARKAR, F. H.; WEI, W. Skp2: A novel potential therapeutic target for prostate cancer. **Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1825, p. 11–17, 2012. Doi 10.1016/J.Bbcan.2011.09.002.

WENTINK, M. Q.; BROXTERMAN, H. J.; LAM, S. W.; BOVEN, E.; WALRAVEN, M.; GRIFFIOEN, A. W.; PILI, R.; VAN DER VLIET, H. J.; DE GRUIJL, T. D.; VERHEUL, H. M. W. A functional bioassay to determine the activity of anti-vegf antibody therapy

in blood of patients with cancer. **British Journal of Cancer**, v. 115, p. 940–948, 2016. Doi 10.1038/Bjc.2016.275.

WITIKA, B. A.; MAKONI, P. A.; MATAFWALI, S. K.; CHABALENGE, B.; MWILA, C.; KALUNGIA, A. C.; NKANGA, C. I.; BAPOLISI, A. M.; WALKER, R. B. Biocompatibility of biomaterials for nanoencapsulation: current approaches. **Nanomaterials**, v. 10, p. 1–40, 2020. Doi: 10.3390/Nano10091649.

XIE, J.; YANG, Z.; ZHOU, C.; ZHU, J.; LEE, R. J.; TENG, L. Nanotechnology for the delivery of phytochemicals in cancer therapy. **Biotechnology Advances**, v. 34, p. 343–353, 2016. Doi 10.1016/J.Biotechadv.2016.04.002.

XIONG, K.; ZHANG, Y.; WEN, Q.; LUO, J.; LU, Y.; WU, Z. X.; WANG, B. Q.; CHEN, Y.; ZHAO, L.; FU, S. Z. Co-delivery of paclitaxel and curcumin by biodegradable polymeric nanoparticles for breast cancer chemotherapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 589, p. 119875–119886, 2020. Doi: 10.1016/J.Ijpharm.2020.119875.

YALLAPU, MURALI M.; KHAN, S.; MAHER, D. M.; EBELING, M. C.; SUNDRAM, V.; CHAUHAN, N.; GANJU, A.; BALAKRISHNA, S.; GUPTA, B. K.; ZAFAR, N.; JAGGI, M.; CHAUHAN, S. C. Anti-cancer activity of curcumin loaded nanoparticles in prostate cancer. **Biomaterials**, v. 35, p. 8635–8648, 2014. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2014.06.040.

YALLAPU, MURALI MOHAN; GUPTA, B. K.; JAGGI, M.; CHAUHAN, S. C. Fabrication of curcumin encapsulated plga nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 351, p. 19–29, 2010. Doi: 10.1016/J.Jcis.2010.05.022.

YANG, L.; WU, P.; XU, J.; XIE, D.; WANG, Z.; WANG, Q.; CHEN, Y.; LI, C. H.; ZHANG, J.; CHEN, H.; QUAN, G. Development of apremilast solid dispersion using TPGS and PVPVA with enhanced solubility and bioavailability. **AAPS Pharmscitech**, v. 22, p. 142–152, 2021. Doi: 10.1208/S12249-021-02005-X.

YUSUF, O.; ALI, R.; ALOMRANI, A. H.; ALSHAMSAN, A.; ALSHEMEMRY, A. K.; ALMALIK, A. M.; LAVASANIFAR, A.; BINKHATHLAN, Z. Design and development of D- α -tocopheryl polyethylene glycol succinate-block-poly(ϵ -caprolactone) (TPGS-b-PCL) nanocarriers for solubilization and controlled release of paclitaxel. **Molecules**, v. 26, p. 2690–2709, 2021. Doi: 10.3390/Molecules26092690.

ZHANG, L.; YU, L.; XU, Y.; QIN, P.; SHEN, P.; LIU, K.; FEI, M.; WANG, H.; CAO, Y.; LU, L.; GAO, W.; ZHANG, Z. Demonstrating analytical similarity of a biosimilar hlx04 to bevacizumab with a panel of state-of-the-art methods and tiering of quality attributes. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 415, p. 3341-3362, 2023. Doi: 10.1007/S00216-023-04716-5.

ZHANG, Z.; HUEY LEE, S.; FENG, S. S. Folate-decorated poly(lactide-co-glycolide)-vitamin e tpgs nanoparticles for targeted drug delivery. **Biomaterials**, v. 28, p. 1889–1899, 2007. Doi 10.1016/J.Biomaterials.2006.12.018.

ZHANG, Z.; TAN, S.; FENG, S. S. Vitamin E TPGS as a molecular biomaterial for drug delivery. **Biomaterials**, v. 33, p. 4889–4906, 2012. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2012.03.046.

ZHU, H.; CHEN, H.; ZENG, X.; WANG, Z.; ZHANG, X.; WU, Y.; GAO, Y.; ZHANG, J.; LIU, K.; LIU, R.; CAI, L.; MEI, L.; FENG, S. S. Co-delivery of chemotherapeutic drugs with vitamin E TPGS by porous PLGA nanoparticles for enhanced chemotherapy against multi-drug resistance. **Biomaterials**, v. 35, p. 2391–2400, 2014. Doi: 10.1016/J.Biomaterials.2013.11.086.

ZIELINSKA, A.; CARREIRÓ, F.; OLIVEIRA, A. M.; NEVES, A.; PIRES, B.; NAGASAMY VENKATESH, D.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; EDER, P.; SILVA, A. M.; SANTINI, A.; SOUTO, E. B. Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology. **Molecules**, v. 25, p. 3731-3751, 2020. Doi: 10.3390/Molecules25163731.