

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 28/01/2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE SISTEMAS LÍQUIDO-CRISTALINOS
MUCOADESIVOS PARA ADMINISTRAÇÃO VAGINAL DE CURCUMINA NO
TRATAMENTO DO CÂNCER CERVICAL**

Francesca Damiani Victorelli

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientadora: Dra. Giovana Maria Fioramonti Calixto

Araraquara – SP

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE SISTEMAS LÍQUIDO CRISTALINOS
MUCOADESIVOS PARA ADMINISTRAÇÃO VAGINAL DE CURCUMINA NO
TRATAMENTO DO CÂNCER CERVICAL**

Francesca Damiani Victorelli

Dissertação 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 Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli
Coorientadora: Dra. Giovana M. F. Calixto

Araraquara-SP

2020

V643a

Victorelli, Francesca Damiani.

Avaliação do potencial de sistemas líquido cristalinos mucoadesivos para administração vaginal de curcumina no tratamento do câncer cervical / Francesca Damiani Victorelli. – Araraquara: [S.n.], 2020. 146 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – 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: Giovana M. F. Calixto.

1. Nanotecnologia farmacêutica. 2. Sistemas líquido-cristalinos. 3. Câncer cervical. 4. Nanopartículas. 5. Curcumina. 6. Administração vaginal. I. Chorilli, Marlus, orient. II. III. Calixto, Giovana M. F., coorient. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada

Agradecimentos

Agradeço à Deus por me presentear com oportunidades e pessoas que enriqueceram a minha vida e por me orientar nas minhas decisões difíceis.

Ao Prof. Dr. Marlus Chorilli pela confiança, dedicação, compreensão, orientação e conselhos de sempre e por mais uma vez ter aberto as portas do laboratório para mim. Muito obrigada pelos incentivos e oportunidades.

À minha co-orientadora Giovana Calixto pela grande ajuda de sempre, pela atenção, suporte e disponibilidade (mesmo com o Lorenzo do lado, rs), além da sua amizade.

Aos meus familiares e amigos, especialmente ao meu pai Fausto Victorelli Jr. e minha mãe Márcia Damiani Victorelli, que sempre me encorajam e me apoiam nas minhas decisões, me orientando e dando todo o suporte necessário. Por todo amor, carinho, apoio, incentivo e ensinamentos que me forneceram base necessária para vencer mais esta etapa. E, sobretudo, pela confiança que sempre depositaram em mim. Ao meu irmão Fausto Damiani Victorelli, por ser a minha inspiração para adquirir sempre mais conhecimento.

Ao meu noivo Rafael Fuzaro pelo amor, paciência, companhia, parceria, compreensão e incentivo de sempre.

À todos os meus amigos do laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica que de alguma forma me ajudaram: Andressa Pironi, Paula Scanavez, Mariza Aires, Valéria Cardoso, Camila Roderio, Mariana Sato, Eliete Von Zuben, Leda Robusti, Patrícia Rocha, Karen Santos, Bruno Fonseca, Franciele Baveloni, Lucas Noboru, Fernanda Boni, Natália G. dos Santos, Natália Noronha, Aline Perissinato, Aline Martins, Vivian Ruz, Andréia Meneguim, e a amável Dona Neusa, muito obrigada por tornarem os meus dias mais divertidos, por dividirem comigo as angústias e alegrias e por todo carinho e amizade.

À gentil Prof.^a Dr.^a Herida Regina Nunes Salgado pela parceria na utilização dos equipamentos. Aos alunos do laboratório de Controle de Qualidade. Muito obrigada pela atenção, paciência e assistência.

Aos professores de Farmacotécnica Dr.^a Palmira D. Gremião; Dr. Anselmo G. Oliveira e Dr.^a Beatriz Stringhetti Ferreira Cury pela parceria na utilização dos equipamentos, pelas contribuições, ensinamentos e amizade.

Ao Prof. Dr. Raffaele Mezzenga, Dra. Livia Salvati Manni e ao Instituto Federal de Tecnologia de Zurique (ETH), por todo o apoio e estrutura, além de todo incentivo e conhecimento adquirido no BEPE.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2017/23357-2 e processo BEPE nº 2019/03929-7, pelo financiamento dessa pesquisa e auxílio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao pessoal da Seção Técnica de Pós-Graduação que sempre foram muito atenciosos e prestativos.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. À Prof.^a Dr.^a Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro, coordenadora do programa de Ciências Farmacêuticas e aos demais membros do conselho do programa.

Muito obrigada a todos que contribuíram para a realização desse projeto e da melhor formar possível.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	14
LISTA DE ABREVIATURAS.....	16
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
CAPÍTULO 1 - Avaliação do potencial de sistemas líquido cristalinos mucoadesivos para administração vaginal de curcumina no tratamento do câncer cervical.....	21
RESUMO CAPÍTULO 1.....	22
ABSTRACT CHAPTER 1.....	23
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
1.1.Câncer.....	24
1.2.Câncer Cervical.....	25
1.2.1. Fisiopatologia.....	25
1.2.2. Prevenção.....	26
1.2.3. Tratamento do Câncer Cervical.....	26
1.3.Curcumina.....	27
1.4.Via de administração vaginal.....	30
1.5.Nanotecnologia Farmacêutica	30
1.5.1. Sistemas líquidos cristalinos.....	31
1.5.1.1.Mesofases.....	32
1.5.1.2.Ácido Oleico.....	33
1.5.2. Álcool cetílico etoxilado 20 e propoxilado 5 (Procetyl® AWS).....	34
1.5.3. Polímeros	34
1.5.3.1.Quitosana (QS)	35
1.5.3.2.Polietilenoimina (PEI)	35

1.6. Ensaio <i>in vivo</i> alternativo: modelo de membrana corioalantóica em ovos de galinha (CAM)	37
2. OBJETIVOS.....	39
2.1. Objetivo Geral.....	39
2.2. Objetivos específicos.....	40
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1. Materiais.....	40
3.2. Métodos.....	41
3.2.1. Preparação das formulações.....	41
3.2.2. Análise estrutural das formulações.....	42
3.2.2.1. Microscopia de luz polarizada.....	42
3.2.2.2. Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS).....	42
3.2.2.3. Determinação do comportamento reológico.....	43
3.2.2.3.1. Análise reológica cisalhamento contínuo (fluxo).....	43
3.2.2.3.2. Análise reológica oscilatória.....	43
3.2.2.4. Análise de perfil de textura.....	44
3.2.2.5. Estudo <i>in vitro</i> de mucoadesão.....	44
3.2.3. Validação da metodologia analítica para quantificação de curcumina por cromatografia líquida de alta eficiência.....	45
3.2.3.1. Seletividade.....	45
3.2.3.2. Linearidade.....	46
3.2.3.3. Precisão.....	46
3.2.3.4. Exatidão.....	46
3.2.3.5. Limite de Detecção.....	46
3.2.3.6. Limite de Quantificação.....	47
3.2.3.7. Doseamento do fármaco no sistema líquido cristalino.....	47
3.2.4. Ensaio de liberação, permeação e retenção <i>in vitro</i>	47
3.2.4.1. Avaliação da cinética de liberação <i>in vitro</i> da curcumina.....	47
3.2.4.2. Ensaio de permeação e retenção <i>in vitro</i> da curcumina.....	47
3.2.5. Ensaio de citotoxicidade.....	49
3.2.5.1. Teste de citotoxicidade por difusão em meio ágar <i>in vitro</i> em linhagem celular fibroblastos (L929) e de câncer cervical (Hela)	49

3.2.6. Ensaio <i>in vivo</i> utilizando o modelo de membrana corioalantóica de embrião da galinha (CAM)	51
3.2.6.1. Obtenção do modelo de CAM.....	51
3.2.6.2. Ensaio para avaliação das alterações vasculares da CAM.....	51
3.2.6.3. Grupos experimentais.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1. Preparação das formulações.....	52
4.2. Análise estrutural das formulações.....	54
4.2.1. Microscopia de luz polarizada (MLP)	54
4.2.2. Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS).....	56
4.2.3. Determinação do comportamento reológico.....	59
4.2.3.1. Análise reológica de cisalhamento contínuo (fluxo).....	59
4.2.3.2. Análise reológica oscilatória.....	64
4.2.4. Análise de perfil de textura.....	68
4.2.5. Estudo <i>in vitro</i> de mucoadesão.....	71
4.3. Validação da metodologia analítica para quantificação de curcumina por cromatografia líquida de alta eficiência.....	73
4.3.1. Conformidade do sistema cromatográfico.....	73
4.3.2. Seletividade.....	75
4.3.3. Linearidade.....	76
4.3.4. Precisão.....	79
4.3.4.1. Repetibilidade.....	80
4.3.4.2. Precisão intermediária.....	80
4.3.4. Exatidão.....	81
4.3.5. Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	82
4.3.6. Doseamento do fármaco no sistema líquido cristalino.....	82
4.4. Ensaio de liberação, permeação e retenção <i>in vitro</i>	82
4.4.1. Avaliação da cinética de liberação <i>in vitro</i> da curcumina.....	83
4.4.2. Ensaio de permeação e retenção <i>in vitro</i> da curcumina.....	84
4.5. Ensaio de citotoxicidade.....	85
4.5.1. Teste de citotoxicidade por difusão em meio ágar <i>in vitro</i> em linhagem celular fibroblastos (L929) e de câncer cervical (Hela)	85

4.6. Ensaio <i>in vivo</i> utilizando o modelo de membrana corioalantóica de embrião da galinha (CAM)	87
4.6.1. Ensaio para avaliação das alterações vasculares da CAM.....	87
5. CONCLUSÕES.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

CAPÍTULO 2: Nanopartículas Líquido Cristalinas como um novo sistema de administração de fármacos para a administração de CUR: potencial aplicação para o tratamento do câncer cervical.....114

RESUMO CAPÍTULO 2.....	115
ABSTRACT CHAPTER 2.....	116
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	117
1.1. Introdução.....	117
1.2. Nanopartículas líquidas cristalinas.....	117
1.2.1. Fase cúbica e cubossomos.....	118
1.3. Monooleína.....	119
1.4. DOTAP.....	120
1.5. Poloxamer 427.....	120
2. OBJETIVOS.....	121
2.1. Objetivo Geral.....	121
2.2. Objetivos específicos.....	121
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	121
3.1. Materiais.....	121
3.2. Métodos.....	122
3.2.1. Desenvolvimento dos sistemas líquidos cristalinos (Bulk) (SLCs).....	122
3.2.2. Desenvolvimento das nanopartículas líquidas cristalinas (NPLCs).....	123
3.2.3. Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS).....	123
3.2.4. Medida do tamanho de partícula e índice de polidispersividade.....	124
3.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão Criogênica (MET-Crio).....	124
3.2.6. Validação da metodologia analítica para quantificação da curcumina pelo leitor de microplacas.....	124
3.2.7. Eficiência de encapsulação.....	125

3.2.8. Ensaio de liberação, permeação e retenção <i>in vitro</i>	125
3.2.8.1. Avaliação da cinética de liberação <i>in vitro</i> da curcumina.....	125
3.8.2. Ensaio de permeação e retenção <i>in vitro</i> da curcumina.....	126
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	126
4.1. Desenvolvimento dos sistemas líquidos cristalinos (Bulk) (SLCs).	126
4.2. Desenvolvimento das nanopartículas líquidas cristalinas (NPLCs).....	128
4.3. Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS)	129
4.4. Medida do tamanho de partícula e índice de polidispersividade.....	133
4.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão Criogênica (MET-Crio)	134
4.6. Validação da metodologia analítica para quantificação da curcumina pelo leitor de microplacas.....	135
4.6.1. Linearidade.....	135
4.6.2. Precisão e Exatidão.....	136
4.7. Eficiência de encapsulação.....	137
4.8. Ensaio de liberação, permeação e retenção <i>in vitro</i>	137
4.8.1. Avaliação da cinética de liberação <i>in vitro</i> da curcumina.	137
4.8.2. Ensaio de permeação e retenção <i>in vitro</i> da curcumina.....	140
5. CONCLUSÃO.....	141
CONCLUSÃO DO CAPÍTULO 1 E CAPÍTULO 2.....	141
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	142
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	142

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da Curcumina.....	27
Figura 2. Representação das diferentes fases líquido cristalinas: a. Fase lamelar; b.1. Fase hexagonal normal; b.2. Fase hexagonal reversa; c. Fase cúbica.....	32
Figura 3. Estrutura do Ácido Oleico.....	33
Figura 4. Estrutura de um álcool graxo etoxilado e propoxilado (PPG-5-Ceteth 20).....	34
Figura 5. Estrutura da quitosana.....	35
Figura 6. Estrutura de um segmento de PEI.....	36
Figura 7. Figura (A) ilustra a mucosa vaginal de porca. Figura (B) ilustra a mucosa sobre a célula de difusão de Franz. Figura (C) ilustra a mucosa no final do experimento.....	49
Figura 8. Placa de seis poços utilizada no método de difusão em ágar.....	50
Figura 9. Diagrama de linha do sistema FPC, FPC30, FPC50 e FPC100.....	53
Figura 10. Fotografia das seguintes formulações: FW (a); FW30 (b); FW50 (c); FW100 (d); FPC (e); FPC30 (f), FPC50 (g) e FPC100 (h).....	54
Figura 11. As formulações FW (1), FW30 (2), FW50 (3) apresentaram estrias e cruz de malta e FW100 (4) apresentou campo escuro e cruz de malta.....	55
Figura 12. As formulações FPC (1), FPC30 (2), FPC50 (3) apresentaram estrias e cruz de malta e a formulação FPC100 (4) apresentou campo escuro e cruz de malta.....	56
Figura 13. Avaliação estrutural das formulações FPC e FPCC por SAXS.....	58
Figura 14. Reogramas de fluxo das formulações ilustram a relação entre tensão de cisalhamento (Pa) e taxa de cisalhamento (1/s) de FW, FWC, FW30, FW30C, FW50, FW50C, FW100, FW100C à 25,0°C e 37,0°C. Símbolos fechados representam a curva de ida e símbolos abertos representam a curva de volta.....	60
Figura 15. Reogramas de fluxo das formulações ilustram a relação entre tensão de cisalhamento (Pa) e taxa de cisalhamento (1/s) de FPC, FPCC, FPC30, FPC30C, FPC50, FPC50C, FPC100, FPC100C à 25,0°C e 37,0°C. Símbolos fechados representam a curva de ida e símbolos abertos representam a curva de volta.....	61
Figura 16. Variação do módulo de armazenagem G' (símbolos cheios) e de perda G'' (símbolos vazios) em função da frequência de FW, FWC, FW30, FW30C, FW50, FW50C, FW100 e FW100C à 25,0°C e 37,0°C.....	65
Figura 17. Variação do módulo de armazenagem G' (símbolos cheios) e de perda G'' (símbolos vazios) em função da frequência de FPC, FPCC, FPC30, FPC30C, FPC50, FPC50C, FPC100 e FPC100C à 25,0°C e 37,0°C.....	66

Figura 18. Perfil de textura das formulações FW e FPC com e sem adição de muco 30%, 50%, 100% e CUR. A Figura (a) indica a dureza das formulações, (b) indica a compressividade, (c) a adesividade e (d) a coesão.....	71
Figura 19. (a) força e (b) trabalho de mucoadesividade das formulações FW, FW30, FW50, FW100, FWC, FW30C, FW50C, FW100C, FPC, FPC30, FPC50, FPC100, FPCC, FPC30C, FPC50C, FPC100C à temperatura de 37,0°C.....	73
Figura 20. Cromatograma da CUR obtido pelo método cromatográfico proposto.....	75
Figura 21. (a) Cromatograma da fase móvel (50% acetonitrila e 50% ácido acético 2%); (b) Cromatograma FW diluída em metanol; (c) Cromatograma FW diluída em meio receptor; (d) Cromatograma FPC diluída em metanol; (e) Cromatograma FPC diluída em meio receptor; (f) Cromatograma mucosa em metanol.....	76
Figura 22. Curva analítica da CUR em metanol obtida pelo método cromatográfico. Fase móvel: ácido acético 2% e acetonitrila (50:50 v/v); Coluna: C18-Eclipse (4,6 mm x 250mm) 5 µm; Vazão: 1,2 mL/min.; λ: 425 nm; Injeção: 20µL; 33°C.....	77
Figura 23. Curva analítica da CUR em meio receptor obtida pelo método cromatográfico. Fase móvel: ácido acético 2% e acetonitrila (50:50 v/v); Coluna: C18-Eclipse (4,6 mm x 250mm) 5 µm; Vazão: 1,2 mL/min.; λ: 425 nm; Injeção: 20µL; 33°C.	79
Figura 24. Perfil de liberação <i>in vitro</i> (%), com membrana de poliétersulfona 0,45 µm, de CUR incorporada nas formulações FW, FPC contendo CUR 0,5% e suspensão contendo CUR 0,5% (FL).....	83
Figura 25. Análise visual das alterações vasculares causadas pelo controle e formulações FW, FPC, FWC e FPCC no medelo CAM.....	89
Figura 26. Apresentação esquemática das fases (A) cúbica tireoidiana (Ia3d), cúbica diamante duplo (Pn3m) e (C) cúbica primitivo (Im3m).....	119
Figura 27. Estrutura química da monooleína.....	120
Figura 28. Estrutura química do DOTAP.....	120
Figura 29. Estrutura química do Pluronic F127.....	120
Figura 30. Figura (A) mostra a MO, DOTAP fundido com CUR. Figura (B) mostra a formulação com excesso de tampão de acetato pH 4,4. Figura (C) mostra a formulação depois de ter sido aquecida e agitada por vortex. Figura (D) mostra a formulação após a sonicação.	129

Figura 31. SAXS das formulações A e B. A linha azul mostra a análise à 25,0°C e a linha laranja mostra a análise à 37,0°C. A Figura (A) mostra a análise da amostra com 100% de MO e tampão acetato de pH 4,4. A Figura (B) mostra a análise da amostra com 95% de MO, 5% de CUR e tampão acetato pH 4,4.....	130
Figura 32. SAXS das formulações C, D, E e F. A linha azul mostra a análise à 25,0°C e a linha laranja mostra a análise à 37,0°C. A Figura (A) mostra a análise da amostra com 95% de MO, 5% de DOTAP e tampão acetato de pH 4,4. A Figura (B) mostra a análise da amostra com 90% de MO, 5% de DOTAP, 5% de CUR e tampão acetato pH 4,4. A Figura (C) mostra a análise da amostra com 95% de MO, 5% de DOTAP e QS + PEI + tampão acetato pH 4,4. A Figura (D) mostra a análise da amostra com 90% de MO, 5% de DOTAP, 5% de CUR e QS + PEI + tampão acetato pH 4,4.....	131
Figura 33. SAXS das formulações G, H, I e J. A linha azul mostra a análise à 25,0°C e a linha laranja mostra a análise à 37,0°C. A Figura (A) mostra a análise da amostra com 80% de MO, 20% de ácido oleico e tampão de acetato pH 4,4. A Figura (B) mostra a análise da amostra com 75% de MO, 20% de ácido oleico, 5% de CUR e tampão acetato pH 4,4. A Figura (C) mostra a análise da amostra com 80% de MO, 20% de ácido oleico, 10% de QS + PEI e tampão de acetato pH 4,4. A Figura (D) mostra a análise da amostra com 75% de MO, 20% de ácido oleico, 5% de CUR, 10% de QS + PEI e tampão de acetato pH 4,4.....	132
Figura 34. SAXS das nanodispersões K e L. A linha azul mostra a análise à 25,0°C e a linha laranja mostra a análise à 37,0°C. A Figura (A) mostra a análise da amostra com 95% de MO, 5% de DOTAP e tampão acetato de pH 4,4. A Figura (B) mostra a análise da amostra com 90% de MO, 5% de DOTAP, 5% de CUR e tampão acetato pH 4,4.....	133
Figura 35. Fotomicrografias de nanopartículas de cristal líquido obtidas por análise de microscopia eletrônica de transmissão. A Figura (A) mostra as nanopartículas sem a presença de curcumina e a Figura (B) mostra as nanopartículas com a presença de curcumina.....	134
Figura 36. Espectro de absorvância de CUR.....	135
Figura 37. Curva de calibração da CUR.....	136
Figura 38. Formulação final - cubossomos carregados com curcumina.....	137
Figura 39. A Figura (A) mostra que a membrana foi colocada sobre o meio receptor. A Figura (B) mostra que o meio receptor não passou pela membrana de polietersulfona.....	138

Figura 40. Perfil de liberação in vitro (%), com membrana de poliétersulfona 0,45 µm, de CUR incorporada na formulação CH contendo CUR 3% e suspensão contendo CUR 0,5%.....139

Figura 41. Perfil de liberação in vitro (%), com membrana de poliétersulfona 0,45 µm, de CUR incorporada na formulação NPLCs contendo CUR 0,1% e suspensão contendo CUR 0,5%.....139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sistemas desenvolvidos.....	42
Tabela 2. Parâmetros utilizados na validação da metodologia analítica.....	45
Tabela 3. Graus de citotoxicidade para classificação das amostras.....	50
Tabela 4. Grupos experimentais para a realização do ensaio utilizando o modelo CAM.....	52
Tabela 5. Índice de fluxo (n) e índice de consistência (k) das formulações FW, FW30, FW50, FW100, FWC, FW30C, FW50C, FW100C, FPC, FPC30, FPC50, FPC100, FPCC, FPC30C, FPC50C e FPC100C à 25,0°C e 37,0°C.....	62
Tabela 6. Valores da resistência do gel (S) e do expoente viscoelástico (n) para as formulações FW, FW30, FW50, FW100, FWC, FW30C, FW50C, FW100C, FPC, FPC30, FPC50, FPC100, FPCC, FPC30C, FPC50C e FPC100C à 25,0°C e 37,0°C.....	67
Tabela 7. Parâmetros investigados para avaliar a conformidade do sistema cromatográfico empregado para análise da CUR.....	74
Tabela 8. Valores das áreas referentes ao pico de CUR em metanol para construção da curva analítica por CLAE.....	77
Tabela 9. Valores das áreas referentes ao pico de CUR em meio receptor para construção da curva analítica por CLAE.....	78
Tabela 10. Análise de variância dos valores das áreas determinados na obtenção da curva analítica de CUR em metanol.....	79
Tabela 11. Análise de variância dos valores das áreas determinados na obtenção da curva analítica de CUR em meio receptor.....	79
Tabela 12. Determinação da precisão intracorrida (Repetibilidade) de CUR no metanol por CLAE.....	80
Tabela 13. Determinação da precisão intermediária de CUR no metanol por CLAE.....	81
Tabela 14. Exatidão do método analítico para análise de CUR na FW e FPC em metanol.....	81
Tabela 15. Exatidão do método analítico para análise de CUR na FW e FPC em meio receptor.....	82
Tabela 16. Doseamento da CUR nos SLCs.....	82

Tabela 17.	Comparação da retenção na mucosa da CUR entre as amostras.....	85
Tabela 18.	Medidas de extensão (cm) dos halos.....	86
Tabela 19.	Parâmetros utilizados na validação da metodologia analítica.....	125
Tabela 20.	Componentes da fase oleosa.....	127
Tabela 21.	Componentes dos bulks.....	128
Tabela 22.	Componentes das nanopartículas.....	128
Tabela 23.	Tamanho das partículas e PDI pelo método de dispersão dinâmica da luz à 25,0°C e 37,0°C.....	134
Tabela 24.	Precisão e exatidão do método espectrofotômetro UV-visível para análise da CUR.....	136
Tabela 25.	Concentração teórica e real das nanopartículas.....	137
Tabela 26.	Retenção de CUR livre em AO, CH e NPLCs na mucosa vaginal.....	140

LISTA DE ABREVIATURAS

AO – ácido oleico

Ca(OH)₂ – Hidróxido de cálcio

CAM- Membrana Corioalantóica de Embrião da galinha (CAM)

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

CUR – Curcumina

DOTAP – 1,2-di-oleil-3 trimetil-amônio-propano

DNA- Ácido Desoxirribonucleico

EM – Emulsão

EPR – “Efeito Enhanced Permeability and Retention”

FL – Fármaco livre

G' – Módulo de armazenamento

G'' – Módulo de perda

HCL – Ácido clorídrico

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

KOH – Hidróxido de Potássio

HPV – Papilomavírus humano

MO – Monooleína

ME – Microemulsão

MET-Crio – Microscopia Eletrônica de Transmissão Criogênica

MLP – Microscopia de luz polarizada

MMPs- Metaloproteinases da Matriz

NaCl – Cloreto de sódio

NIC – Neoplasia Intraepitelial Cervical

NPLCs – Nanopartículas líquidos cristalinos

Pa – Pascal

PDI – Polidispersividade

PEI – Polietilenoimina

QS – Quitosana

SAXS – Espalhamento de raios X a baixo ângulo

SF- Separação de fase

RESUMO

O câncer cervical é o tumor ginecológico que mais causa mortes no mundo entre as mulheres, representando um grande problema de saúde pública. Os tratamentos convencionais envolvem a realização de cirurgia ginecológica, radioterapia e radioquimioterapia, que são restritos e apresentam vários efeitos colaterais, impactando negativamente na qualidade de vida das pacientes. Tendo em vista esse cenário, é de extrema importância a pesquisa de novas moléculas bioativas para uso no tratamento antitumoral, como a curcumina (CUR), que atua por indução de apoptose em células cancerígenas. Todavia, ela apresenta baixa solubilidade aquosa, que dificulta a sua utilização. Para resolver esse problema, alternativas estratégicas são sua incorporação em sistemas líquido-cristalinos (SLCs) e nanopartículas líquidas cristalinas (NPLCs). Esses sistemas apresentam a capacidade de controlar a liberação de fármaco, além de potencializarem a sua ação, acarretando em aumento da sua concentração no tumor e redução de danos no tecido normal. O objetivo do capítulo 1 foi desenvolver SLCs constituídos de álcool cetílico etoxilado 20 e propoxilado 5, ácido oleico e fase aquosa contendo água (FW) ou dispersão de quitosana associada a polietilenoimina (FPC) para administração vaginal de CUR e caracterizá-los empregando a microscopia de luz polarizada (MLP), espalhamento de raios X de baixo ângulo (SAXS), reologia, perfil de textura e mucoadesão além de realizar estudos de liberação, permeação e retenção *in vitro*, ensaio de citotoxicidade e verificar as alterações vasculares no modelo membrana corioalantóica de embrião da galinha (CAM). Já o objetivo do capítulo 2 foi desenvolver SLCs constituídos por monooleína e ácido oleico (CH) e NPLCs constituídas por monooleína, DOTAP e poloxamer 127 e caracterizá-los empregando o espalhamento de raios X de baixo ângulo (SAXS), tamanho de partícula e polidispersidade e microscopia eletrônica de transmissão criogênica (Cryo-TEM) além de realizar estudos de liberação, permeação e retenção *in vitro*. Os resultados da MLP e SAXS revelaram que a formulação FPC apresentou fase lamelar, a formulação CH fase hexagonal e as NPLCs fase cúbica. Os resultados sugeriram que as NPLCs possuem escala nanométrica, uma vez que as partículas apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio entre 166,67 a 182,71 nm e índice de polidispersidade na faixa de 0,126 a 0,278. O Cryo-TEM das NPLCs mostrou que houve a formação de cubossomos. A reologia mostrou que as formulações FPC e FW apresentaram comportamento pseudoplástico e tixotropia e FPC demonstrou melhores propriedades mecânicas e mucoadesivas, cujo desempenho é desejável para formulações de uso tópico. Os estudos de liberação, permeação e retenção *in vitro* mostraram que a formulação FPC liberou em 12 horas 7,79%, FW 7,04%, CH 1,82% e as NPLCs 42,04% de CUR, agindo como sistemas de liberação prolongada. As formulações FW e FPC reteram na mucosa vaginal em torno de 2,3%, CH 1,11% e as NPLCs 8,88% de CUR. As formulações FW e FPC contendo ou não CUR apresentaram biocompatibilidade com as células L929 e toxicidade para as células Hela. Por fim, foi possível observar uma diminuição no calibre e o número vasos na CAM após a aplicação de FPC. Portanto, tendo em vista os resultados obtidos pode-se concluir que os sistemas desenvolvidos apresentaram características interessantes para o tratamento de câncer cervical.

Palavras-chave: nanotecnologia farmacêutica, sistemas líquido-cristalinos, nanopartículas, curcumina, administração vaginal, câncer cervical.

ABSTRACT

Cervical cancer is the gynecological tumor that causes the most deaths in the world among women, representing a major public health problem. Conventional treatments involve gynecological surgery, radiotherapy and radiochemotherapy, which are restricted and have several side effects, negatively impacting patients' quality of life. In view of this scenario, it is extremely important to search for new bioactive molecules for use in antitumor treatment, such as curcumin (CUR), which acts by inducing apoptosis in cancer cells. However, it has low aqueous solubility, which makes its use difficult. To solve this problem, a strategic alternative is its incorporation into liquid crystalline systems (LCSs) and liquid crystalline nanoparticles (LCNPs). These systems have the ability to control drug release, in addition to potentiating their action, resulting in increased concentration in the tumor and reduced damage to normal tissue. The objective of Chapter 1 was to develop SLCs containing ethoxylated 20 and propoxylated 5 cetyl alcohol, oleic acid and aqueous phase containing water (FW) or dispersion of chitosan associated with polyethyleneimine (FPC) for vaginal administration of CUR and to characterize them using microscopy polarized light (MLP), low-angle X-ray scattering (SAXS), rheology, texture profile and mucoadhesion in addition to conducting *in vitro* release, permeation and retention studies, cytotoxicity assay and checking vascular changes in the chorioallantoic membrane model of chicken embryo (CAM). The objective of Chapter 2 was to develop SLCs containing monoolein, oleic acid and aqueous phase containing dispersion of chitosan associated with polyethyleneimine and NPLCs consisting of monoolein, DOTAP and poloxamer 127 and to characterize them using low angle X-ray scattering (SAXS), particle size and polydispersity and cryogenic transmission electron microscopy (Cryo-TEM) in addition to conducting *in vitro* release, permeation and retention studies. The results of MLP and SAXS revealed that the FPC formulation presented lamellar phase, the CH formulation hexagonal phase and the NPLCs cubic phase. The results suggested that NPLCs have a nanoscale scale, since the particles had a diameter between 166.67 to 182.71 nm and PDI in the range of 0.126 to 0.278. The Cryo-TEM of the NPLCs showed that cubosomes were formed. Rheology determined that the formulations FPC and FW showed pseudoplastic and thixotropic behavior and FPC demonstrated better mechanical and mucoadhesive properties, which performance is desirable for topical formulations. The *in vitro* release, permeation and retention studies showed that the formulation FPC released in 12 hours 7.79%, FW 7.04%, CH 1.82% and NPLCs 42.04% of CUR, acting as delivery systems prolonged. The formulations FW and FPC retain in the vaginal mucosa around 2.3%, CH 1.11% and NPLCs 8.88% CUR. The formulations FW and FPC containing or not CUR showed biocompatibility with L929 cells and toxicity for Hela cells. Finally, it was possible to observe a decrease in the caliber and the number of vessels in the CAM after the application of FPC. Therefore, in view of the results obtained, it can be concluded that the developed systems presented interesting characteristics for the treatment of cervical cancer.

Key words: pharmaceutical nanotechnology, liquid-crystalline systems, nanoparticles, curcumin, vaginal administration, cervical cancer.

INTRODUÇÃO

A redação dessa dissertação foi dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo se destina ao desenvolvimento e caracterização de sistemas líquidos cristalinos acrescidos de curcumina, bem como o ensaio de liberação, permeação e retenção cutânea *in vitro*, ensaio citotóxico *in vitro* e ensaio de alteração vascular *in vivo* com modelo da membrana corioalantóica de embrião da galinha (CAM). Estes estudos foram realizados em sua maioria na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. O segundo capítulo se destina ao desenvolvimento e caracterização de um novo sistema de liberação de fármaco, as nanodispersões líquidas cristalinas, bem como o ensaio de liberação, permeação e retenção cutânea *in vitro*. Este estudo foi realizado no mestrado sanduíche, o qual foi desenvolvido no Instituto Federal de Tecnologia de Zurique (ETHZ), Suíça, sob a supervisão do Prof. Dr. Raffaele Mezzenga.

O câncer cervical é o terceiro câncer mais comum que afeta as mulheres (FREITAS et al., 2014), é responsável por 530 mil novos casos e causa 270 mil mortes em todo o mundo a cada ano (WHO, 2016), representando um grande problema de saúde pública.

Este câncer pode ser tratado com cirurgia, radioterapia ou radioquimioterapia, todos impactando negativamente na qualidade de vida da mulher e frequentemente com prognóstico desfavorável (GREIMEL et al., 2009; THE CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK, 2017; INCA, 2017; RAVAL et al., 2012). Portanto, é interessante a pesquisa de novas moléculas bioativas para uso na terapia antitumoral, bem como a utilização de vias alternativas para administração dos fármacos empregados no tratamento.

A curcumina (CUR) é um produto natural isolado dos rizomas da planta de *Curcuma longa* (SHARMA et al., 2005). Este fármaco apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antiproliferativas, antiangiogênicas e anticancerígenas (SALMAZI et al., 2015), podendo agir como quimiopreventivo e terapêutico contra vários tipos de câncer como de mama, cervical, intestino, hepático, ovário, pancreático e próstata. Uma característica muito interessante da CUR é que ela é capaz de proteger as células saudáveis, devido a sua capacidade antioxidante, enquanto induz apoptose em células cancerígenas (CHEN et al., 2016; DUVOIX et al., 2005; KUNNUMAKKARA et al., 2008). Além disso, a CUR inibe as metaloproteinases da matriz (MMPs) tipo 2 e 9 (LEE et al., 2015; KOIVUNEN et al., 1999), o que contribui para a diminuição do crescimento tumoral.

A CUR é uma molécula altamente lipofílica que percorre rapidamente a membrana celular e não é tóxica para células normais (GHALANDARLAKI et al., 2014), porém apresenta pouca solubilidade em água, baixa meia-vida e instabilidade química, o que diminui a sua

biodisponibilidade (GHALANDARLAKI et al., 2014; SUN et al., 2012; AHMAD et al., 2015). Assim, uma estratégia para viabilizar sua utilização é a sua incorporação em sistemas de liberação de fármacos, como sistemas líquido-cristalinos (SLCs) e nanopartículas líquido cristalinas (NPLCs) para administração vaginal.

A via vaginal é uma via de administração de fármacos que apresenta grandes vantagens como a ausência do efeito de primeira passagem (SILVA et al., 2014; YANG et al., 2014). Porém, esta via pode também apresentar características desfavoráveis como a secreção de fluídos, o que contribui para a remoção fácil da formulação, exigindo um maior número de aplicações em um intervalo de tempo menor (FRANK et al., 2014, VALENTA et al., 2005).

Portanto, torna-se necessário o uso de sistemas de liberação de fármacos com características mucoadesivas para superar os desafios supracitados da via vaginal, pois esses sistemas conseguem proteger os quimioterápicos contra a degradação físico- química, aumentar seu tempo de permanência no ambiente vaginal e controlar a sua liberação (KANG et al., 2009; EL-HAMMADI; ARIAS, 2016), de forma a possibilitar um tratamento local do câncer cervical (ZONG et al., 2015).

Dentre os sistemas nanoestruturados, os sistemas líquidos cristalinos (SLCs) apresentam características interessantes uma vez que combinam as propriedades de um cristal sólido com as de um líquido isotrópico, podendo proteger os fármacos e possibilitar a sua liberação controlada (SALMAZI et al., 2015; BERNEGOSSO et al., 2016; CHORILLI et al., 2016; CALIXTO et al., 2016, CINTRA et al., 2016). Os SLCs podem apresentar as mesofases hexagonal, cúbica e lamelar (CALIXTO et al., 2017). Já as nanopartículas apresentam mesofases hexagonal e cúbica, denominadas como hexossomos e cubossomos, respectivamente SPICER et al., 2005; YAGHMUR et al., 2009; LANCELOT et al., 2014; HIRLEKAR et al., 2010).

Portanto, tendo como base o panorama atual desfavorável às modalidades terapêuticas convencionais para o tratamento do câncer cervical, acredita-se que a incorporação de CUR em SLCs e NPLCs possa ser uma ferramenta nanobiotecnológica promissora para o tratamento do câncer cervical.

CONCLUSÃO DO CAPÍTULO 1 E CAPÍTULO 2

De acordo com o capítulo 1 e o capítulo 2, foi possível desenvolver SLCs constituídos por ácido oleico e procetyl, e ácido oleico e monooleína ambos os sistemas contendo ou não a dispersão polimérica. Foi possível também desenvolver NPLCs constituída por monooleína e DOTAP. Os sistemas líquido-cristalinos (bulk) apresentaram uma viscosidade maior do que as nanopartículas líquido cristalinas. Porém as nanopartículas apresentaram uma liberação mais rápida do que os bulks desenvolvidos de fase hexagonal e lamelar. O bulk de fase hexagonal liberou mais lentamente e em menor quantidade do que o bulk de fase lamelar. Conclui-se que os sistemas líquido-cristalinos e nanopartículas de cristal líquido são sistemas interessantes para serem explorados como sistemas de liberação de fármacos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDEL-HAMID, N.M.; ABASS, S.A.; MOHAMED, A.A.; HAMID, D.M. Herbal management of hepatocellular carcinoma through cutting the pathways of the common risk factors. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 107, p. 1246-1258, 2018.
2. ALEXANDROV, L.B., et al. Signatures of mutational processes in human cancer. **Nature**. v. 500, p. 415-421, 2013.
3. AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHARTI, A. C. Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. **Anticancer Research**. v. 23, n. 1A, p. 363-398, 2003.
4. AGNIHOTRI A.S; MALLIKARJUNA N.N.; AMINABHAVI T.M. Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**. v. 100, p. 5–28, 2004.
5. AHMAD, M.Z. et al. Progress in nanotechnology-based drug carrier in designing of curcumin nanomedicines for cancer therapy: current state-of-the-art. **Journal of Drug Targeting**. v. 24, n. 4, p. 273-293, 2015.
6. AHMADI, F. Induction of apoptosis in hela cancer cells by an ultrasonic-mediated synthesis of curcumin-loaded chitosan–alginate–sTPP nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**. v. 12, p. 8545–8556, 2017.
7. AIDÉ, S. et al. Neoplasia intraepitelial cervical. DST **Jornal Brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 21, n. 4, p. 166-170, 2009.
8. ANAND, P.; KUNNUMAKARA, A.B.; SUNDARAM, C.; HARIKUMAR, K.B.; THARAKAN, S.T.; LAI, O.S.; SUNG, B.; AGGARWAL, B.B. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. **Pharmaceutical research**. v. 25, p. 2097-2116, 2008.
9. ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALEN Jr, L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. Porto Alegre: Artmed, 2000.
10. ASSMANN, G., et al. International consensus statement on olive oil and the Mediterranean diet: implications for health in Europe. The Olive Oil and the Mediterranean Diet Panel. **European Journal Cancer Prevention**, v. 6, p. 418-421, 1997.
11. AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

12. AUSPRUNK, D.H.; KNIGHTON, D.R.; FOLKMAN, J. Differentiation of vascular endothelium in the chick chorioallantois: a structural and autoradiographic study. **Developmental biology**. v. 38, p. 237-248, 1974.
13. AUSTIN L.T.; AHMAD F.; MCNALLY M. J.; STEWART, D. E. Breast and cervical cancer screening in Hispanic women: a literature review using the health belief model. **Women Health Issues**, v. 12, n. 3, p. 122-128, 2002.
14. AMERICAN CANCER SOCIETY. Cervical Cancer. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/cervical-cancer.html>. Acesso em: 05 Janeiro 2020.
15. AMERICAN CANCER SOCIETY. Cervical Cancer Stages. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/cervical-cancer/detection-diagnosis-staging/staged.html>. Acesso em: 05 Janeiro 2020.
16. BAGHDAN, E., et al. Lipid coated chitosan-DNA nanoparticles for enhanced gene delivery. **International Journal Pharmaceutics**. v. 535, p. 473-479, 2018.
17. BALUK, P.; HASHIZUME, H.; MCDONALD, D.M. Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. **Current Opinion in Genetics & Development**. v. 15, n. 1, p. 102-111, 2005.
18. BASIT, A.W. Advances in colonic drug delivery. **Drugs**. v. 65, p. 1991-2007, 2005.
19. BENJAMINSEN, R.V. et al. The possible “proton sponge” effect of polyethylenimine (PEI) does not include change in lysosomal pH. **Molecular Therapy**. v. 21, n. 1, p. 149-157, 2013.
20. BERGSTRÖM, A., et al. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. **International journal of Cancer**. v. 91, p. 421-430, 2001.
21. BERNEGOSS, J. et al. Green tea glycolic extract-loaded liquid crystal systems: development, characterization and microbiological control. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 3, p. 383-390, 2016.
22. BERNKOP-SCHNURCH A.; DUNNHaupt, S. Chitosan-based drug delivery systems. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceuticcs**. v. 81, p. 463–469, 2012.
23. BERSAMIN, A., et al. Westernizing diets influence fat intake, red blood cell fatty acid composition, and health in remote Alaskan Native communities in the center for Alaska Native health study. **Journal of the American Dietetic Association**. v. 108, p. 266-273, 2008.

24. BESLER, H.T.; GRIMBLE, R.F. Comparison of the modulatory influence of maize and olive oils and butter on metabolic responses to endotoxin in rats. **Clinical science (London)**. v. 88, p. 59-66, 1995.
25. BOSCH, F. X., et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. **Journal of Clinical Pathology**, v. 55, n. 4, p. 244 – 265, 2002.
26. BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RDC nº 166**, de 24 de julho de 2017.
27. BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE nº 899**, “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. 2003.
28. BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos. 2016.
29. BRAY, F.; et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**. v. 68, p. 394-424, 2018.
30. BREMER, C. et al. In vivo molecular target assessment of matrix metalloproteinase inhibition. **Nature medicine**. v. 7, n. 6, p. 743-748, 2001.
31. BRUNO, B. J.; MILLER, G. D.; LIM, C. S. Basics and recent advances in peptide and protein drug delivery. **Therapeutic delivery**. v.4, p. 1443-1467, 2013.
32. BRUSCHI, M. L. et al. Precursor system of liquid crystalline phase containing propolis microparticles for the treatment of periodontal disease: development and characterization. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 34, n. 3, p. 267-278, 2008.
33. BUZZÁ, H.H., et al. Vascular Effects of Photodynamic Therapy with Curcumin in a Chorioallantoic Membrane Model. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 20, p. 1084, 2019.
34. CALIXTO, G. et al. Polyacrylic acid polymers hydrogels intended to topical drug delivery: preparation and characterization. **Pharmaceutical Development and Technology**. v. 20, n. 4, p. 490-496, 2015.
35. CALIXTO, G., et al. Design and Characterization of a Novel p1025 Peptide-Loaded Liquid Crystalline System for the Treatment of Dental Caries. **Molecules**. v. 21, n. 2, p. 158, 2016.
36. CALIXTO, G.; VICTORELLI, F.; DOVIGO, L.; CHORILLI, M. Polyethyleneimine and Chitosan Polymer-Based Mucoadhesive Liquid Crystalline Systems Intended for

- Buccal Drug Delivery. **American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech**. v. 19, n. 2, p. 820-836, 2018.
37. CALIXTO, G. Sistemas precursores de cristais líquidos mucoadesivos para administração bucal de peptídeo antigelatinolítico associados à terapia fotodinâmica no tratamento do câncer bucal. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2017.
 38. CARMELIET P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. **Oncology**. v. 69, p. 4-10, 2005.
 39. CARVALHO, F.C., et al. Rheological, mechanical and adhesive properties of surfactant- containing systems designed as a potential platform for topical drug delivery. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. v. 8, n. 2, 2012.
 40. CARVALHO F.C., et al Surfactant systems for nasal zidovudine delivery: structural, rheological and mucoadhesive properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 62, n. 4, p. 430-439, 2010.
 41. CHAINANI-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of turmeric (*Curcuma longa*). **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**. v. 9, n. 1, p. 1618, 2003.
 42. CHATTOPADHYAY, I.; BISWAS, K.; BANDYOPADHYAY, U.; BANERJEE, R. K. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. **Current science**. v. 87, n. 1, p. 44-53, 2004.
 43. CHO, B. et al. Mesophase structure-mechanical and ionic transport correlations in extended amphiphilic dendrons. **Science**. v. 305, n. 5690, p. 1598-1601, 2004.
 44. CHORILLI, M., et al. Rheological characterization and safety evaluation of non-ionic lamellar liquid crystalline systems containing retinyl palmitate. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. v. 12, n. 2, p. 394-403, 2016.
 45. CHORILLI, M., et al. Structural characterization and in vivo evaluation of retinyl palmitate in non-ionic lamellar liquid crystalline system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 85, n. 2, p. 182–188, 2011.
 46. CINTRA, G.A.S., et al. Bioadhesive surfactant systems for methotrexate skin delivery. **Molecules**. v. 21, n. 2, p. 231, 2016.

47. CHATELET, C.; DAMOUR, O.; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. **Biomaterials**. v. 22, n. 3, p. 261–268, 2001.
48. CHEN, J., et al. Curcumin and its promise as an anticancer drug: An analysis of its anticancer and antifungal effects in cancer and associated complications from invasive fungal infections. **European Journal of Pharmacology**. v. 772, p. 33-42, 2016.
49. COLONE, M., et al. Redox-active Microcapsules as Drug Delivery System in Breast Cancer Cells and Spheroids. **Journal of Molecular and Genetic Medicine**. v.10, p. 1-6, 2016.
50. COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal Pharmaceutical Sciences**. v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.
51. CRODA. SAFETY DATA SHEET PROCETYL™ AWS-LQ-(RB), 2010.
52. DA-LOZZO, E.J., et al. Curcumin/xanthan–galactomannan hydrogels: Rheological analysis and biocompatibility. **Carbohydrate Polymers**. v. 93, p. 279-284, 2013.
53. DANAEI, G., et al. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. **The Lancet**. v. 366, p. 1784-1793, 2005.
54. DANHIER, F.; FERON, O.; PRÉAT, V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. **Journal of Controlled Release**. v. 148, n. 2, p. 135-146, 2010.
55. DASHA, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan—a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**. v. 36, p. 981–1014, 2011.
56. DAS NEVES, J.; AMARAL, M. H.; BAHIA, M. F. Vaginal drug delivery. **Pharmaceutical Sciences Encyclopedia**, 2008.
57. DAVYDOVA, V. N., et al. Cytokine-inducing and anti-inflammatory activity of chitosan and its low- molecular derivative. **Applied Biochemistry and Microbiology**. v. 52, n. 5, p. 476–482, 2016.
58. DERYUGINA, E.I., QUIGLEY, J.P. Chick embryo chorioallantoic membrane models to quantify angiogenesis induced by inflammatory and tumor cells or purified effector molecules. **Methods in enzymology**. v. 444, p. 21-41, 2008.
59. DIVYA, C. S.; PILLAI, M. R. Antitumor Action of Curcumin in Human Papillomavirus Associated Cells Involves Downregulation of Viral Oncogenes,

- Prevention of NF κ B and AP-1 Translocation, and Modulation of Apoptosis. **Molecular Carcinogenesis**. v. 45, n. 5, p. 320–332, 2006.
60. DROSOS, A.A.; MOUTSOPOULOS, H.M. Rheumatoid arthritis in Greece: clinical, serological and genetic considerations. **Clinical and experimental rheumatology**. v. 13, p. 7-12, 1995.
 61. DUMORTIER, G. et al. Rheological study of a thermoreversible morphine gel. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 17, p. 1255-1265, 1991.
 62. DUVOIX, A. et al. Chemopreventive and Therapeutic effects of curcumin. **Cancer Letters**. v. 223, n. 2, p. 181-190, 2005.
 63. EL-HAMMADI, M. M.; ARIAS, J. L. Nanotechnology for Vaginal Drug Delivery and Targeting. In: *Nanotechnology and Drug Delivery, Volume Two: Nano-Engineering Strategies and Nanomedicines against Severe Diseases*. CRC Press, 2016.
 64. EGEBLAD, M. et al. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. **Nature Reviews Cancer**. v. 2, n. 3, p. 161-174, 2002.
 65. EXPONENT LITE Software: introduction to texture analysis. Version 4,5 [SI]: TA-XT Plus, Stable Micro Systems, 2009, 1 CD-ROM.
 66. EZZATI, M.; LOPEZ, A.D.; RODGERS, A.A.; Murray, C.J. Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. World Health Organization. Geneva. 2004.
 67. FACHINETTI, N. et al. Comparative Study of Glyceryl Behenate or Polyoxyethylene 40 Stearate-Based Lipid Carriers for Trans-Resveratrol Delivery: Development, Characterization and Evaluation of the In Vitro Tyrosinase Inhibition. **Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTec**. 2018.
 68. FANG, J.-Y.; HUNG, C.-F.; HUA, S.-C.; HWANG, T.-L. Acoustically active perfluorocarbon nanoemulsions as drug delivery carriers for camptothecin: drug release and cytotoxicity against cancer cells. **Ultrasonics**. v. 49, p. 39-46, 2009.
 69. FAROOQUI et al. Curcumin for Neurological and Psychiatric Disorders. Chapter 2 - Curcumin: Historical Background, Chemistry, Pharmacological Action, and Potential Therapeutic Value. 2019.
 70. FDA Reviewer Guidance' Validation of Chromatographic Methods, 1994.
 71. FEDERMAN, J.L.; BROWN, G.C.; FELBERG, N.T.; FELTON, S.M. Experimental ocular angiogenesis. **American journal of ophthalmology**. v. 89, p. 231-237, 1980.

72. FERRARA, N.; GERBER, H.-P.; LECOUTER, J. The biology of VEGF and its receptors. **Nature medicine**. v. 9, n. 6, p. 669-676, 2003.
73. FERRARA, N.; HILLAN, K.J.; GERBER, H.-P.; NOVOTNY, W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. **Nature reviews Drug discovery**. v. 3, n. 5, 391-400, 2004.
74. FERREIRA, L.M.B., et al. Exploiting supramolecular interactions to produce bevacizumab-loaded nanoparticles for potential mucosal delivery. **European Polymer Journal**. v. 103, p. 238-250, 2018.
75. FERREIRA, N.N., et al. Alginate hydrogel improves anti-angiogenic bevacizumab activity in cancer therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 119, p. 271-282, 2017a.
76. FERREIRA, N. N., et al. A Novel pH-responsive Hydrogel Based on Calcium Alginate Engineered by the Previous Formation of Polyelectrolyte Complexes (PECs) Intended to Vaginal Administration. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 43; n. 10, 1-33, 2017b.
77. FESTING, S.; WILKINSON, R. The ethics of animal research. **EMBO reports**. v. 8, p. 526-530, 2007.
78. FOLKMAN, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. **New england journal of medicine**. v. 285, p. 1182-1186, 1971.
79. 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, n. 7, p. 1029-1037, 2017.
80. FONSECA - SANTOS, B., et al. Design, characterization, and biological evaluation of curcumin-loaded surfactant-based systems for topical drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**. v. 2016, n. 11, p. 4553-4562, 2016.
81. FONSECA – SANTOS, B. et al. Trans-resveratrol-loaded nonionic lamellar liquid-crystalline systems: structural, rheological, mechanical, textural, and bioadhesive characterization and evaluation of in vivo anti-inflammatory activity. **International Journal of Nanomedicine**. v. 12, p. 6883–6893, 2017.
82. FORMARIZ, T. P. et al. Structural changes of biocompatible neutral microemulsions stabilized by mixed surfactant containing soya phosphatidylcholine and their

- relationship with doxorubicin release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 63, n. 2, p. 287-295, 2008.
83. FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n. 3, p. 301 – 313, 2005.
 84. FRANCO, E. L.; DUARTE – FRANCO, E.; FERENCZY, A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. **Canadian Medical Association Journal**. v. 164, n. 7, p. 1017-25, 2001.
 85. FRANK, S.A. Inheritance of cancer. **Discovery medicine**. v. 4, p. 396-400, 2009.
 86. FRANK, L. A., et al. Chitosan gel containing polymeric nanocapsules: a new formulation for vaginal drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**. v. 9, p. 3151-3161, 2014.
 87. FREITAS, L. M.; SOARES, C. P.; FONTANA, C. R.; Synergistic effect of photodynamic therapy and cisplatin: a novel approach for cervical cancer. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 140, p. 365-373, 2014.
 88. FRIEDMAN, A. J.; PHAN, J.; SCHAIRER, D. O. et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of chitosan-alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens,” **The Journal of Investigative Dermatology**. v. 133, n. 5, p. 1231–1239, 2013.
 89. FRUMOVITZ, M. et al. Quality of Life and Sexual Functioning in Cervical Cancer Survivors. **Journal Of Clinical Oncology**. v. 23, n. 30, p. 7428 - 7436, 2005.
 90. GABBOUN, N.H.; NAJIB, N.M.; IBRAHIM, H.G.; ASSAF, S. Release of salicylic acid and diclofenac acid salts from isotropic and anisotropic nonionic surfactant sustems across rat skin. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 212, p. 73-80, 2001.
 91. GALLO, J.; RASKA, M.; KRIEGOVA, E.; GOODMAN, S. B. Inflammation and its resolution and the musculoskeletal system. **Journal of Orthopaedic Translation**. v. 10, p. 52–67, 2017.
 92. GHALANDARLAKI, N.; ALIZADEH, A. M.; ASHKANI-ESFAHANI, S. Nanotechnology-Applied Curcumin for Different Diseases Therapy. **BioMed Research International**. v. 2014, 23 pages, 2014.
 93. GOSENCA, M.; BESTER-ROGAC, M.; GASPERLIN, M. Lecithin based lamellar liquid crystals as a physiologically acceptable dermal delivery system for ascorbyl

- palmitate. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 50, n. 1, p. 114–122, 2013.
94. GRATIERI, T. et al. A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 75, n. 2, p. 186- 193, 2010.
 95. GREIMEL, E. R. et al. Quality of life and sexual functioning after cervical cancer treatment: a long-term follow-up study. **Psycho-Oncology**. v. 18, p. 476 – 482, 2009.
 96. GREISH, K. Enhanced permeability and retention effect for selective targeting of anticancer nanomedicine:^[1]_{SEP}are we there yet? **Drug Discovery Today: Technologies**. v. 9, n. 2, p. 161-166, 2012.
 97. GÜNTHER, M. et al. Polyethylenimines for RNAi-mediate gene targeting in vivo and siRNA delivery to the lung. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 77, n. 3, p. 438-449, 2011.
 98. GUO, C., et al. Liotropic liquid crystal systems in drug delivery. **Drug Discovery Today**. v. 15, n. 23, p. 1032-1040, 2010.
 99. GUPTA, P.K.; HUNG, C.-T. Targeted delivery of low dose doxorubicin hydrochloride administered via magnetic albumin microspheres in rats. **Journal of microencapsulation**. v. 7, p. 85-94, 1990.
 100. GUPTA, P.; VERMANI, K.; GARG, S. Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. **Drug discovery today**. v. 7, p. 569-579, 2002.
 101. GUNSTONE, F. D. High resolution ¹³C NMR. A technique for the study of lipid structure and composition. **Progress in Lipid Research**. v. 33, p. 19-28, 1994.
 102. HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. The hallmarks of cancer. **Cell**. v. 100, p. 57-70, 2000.
 103. HOLCOMB, K. M. D.; RUNOWICZ, C. D. Cervical Cancer Screening. **Surgical Oncology clinics of North America**. v. 14, p. 777-797, 2005.
 104. HOLMQVIST, P.; ALEXANDRIDIS, P.; LINDMAN, B. Modification of the Microstructure in Poloxamer Block Copolymer–Water–“Oil” Systems by Varying the “Oil” Type. **Macromolecules**. v. 30, n. 22, p. 6788-6796, 1997.
 105. HORNSTRA G. Dietary fats, prostanoids and arterial thrombosis. **Biochemical physiology of dietary fats**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, p. 15–29, 1982.

106. HOWLING, G. I. et al. The effect of chitin and chitosan on fibroblast-populated collagen lattice contraction. **Biotechnology and Applied Biochemistry**. v. 36, p. 247-253, 2002.
107. HUANG, D., et al. Anti-angiogenesis or pro-angiogenesis for cancer treatment: focus on drug distribution. **International journal of clinical and experimental medicine**. v. 8, n. 6, p. 8369-8376, 2015.
108. HUANG, I.-P., et al. Enhanced chemotherapy of cancer using pH-sensitive mesoporous silica nanoparticles to antagonize P-glycoprotein-mediated drug resistance. **Molecular cancer therapeutics**. v. 10, n. 761-769, 2011.
109. HUSSAIN, A.; AHSAN, F. The vagina as a route for systemic drug delivery. **Journal of Controlled Release**. v. 103, p. 301–313, 2005.
110. HUSSAIN, S.P., HOFSETH, L.J., HARRIS, C.C. Radical causes of cancer. **Nature Reviews Cancer**. v. 3, n.4, 276 - 285, 2003.
111. HYDE, S.T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. In: HOLMBERG, K., ed. *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 2001. cap.16, p.299-332.
112. IBRAHEEM, D., ELAISSARI, A., FESSI, H. Gene therapy and DNA delivery systems. **International journal of pharmaceutics**. v. 459, p. 70-83, 2014.
113. ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; *ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*, 2005.
114. ILLUM, L., et al. Chitosan as a novel nasal delivery system for vaccines. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 51, p. 81–96, 2001.
115. INCA Instituto Nacional de Câncer. <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-do-colo-do-utero>Acesso em: 01 Janeiro 2020.
116. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*, DOQ-CGCRE-008, 2003.
117. IQBAL, M., et al. Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. **Journal of Pharmacology and Toxicology**. v. 92, n. 1, p. 33-38, 2003.

118. ISAAC, V. L. B. et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.
119. JAIN, R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. **Science**. v. 307, n. 5706, p. 58-62, 2005.
120. JAIN, A., et al. Peptide and protein delivery using new drug delivery systems. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**. v. 30, p. 293-329, 2013.
121. JAGTAP, S. et al. Chemoprotective Mechanism of the Natural Compounds, Epigallocatechin-3-O-Gallate, Quercetin and Curcumin Against Cancer and Cardiovascular Diseases. **Current Medicinal Chemistry**. v. 16, n. 12, p. 1451-1462, 2009.
122. JAYANTHI, S.A.; DAS, A.B.; SAXENA, U. Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 91, p. 15-23, 2017.
123. JERE, D. et al. Chitosan-graft-polyethylenimine for Akt1 siRNA delivery to lung cancer cells. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 378, n. 1-2, 194-200, 2009.
124. JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; DJOKIC, J. Texture profile analysis of bioadhesive polymeric semisolids: Mechanical characterization and investigation of interactions between formulation components. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 61, n. 12, p. 2229–2234, 1996.
125. JOSSA, F.; MANCINI, M. The Mediterranean diet in the prevention of arteriosclerosis. **Recenti progressi in medicina**. v., 87, p. 175-181, 1996.
126. JOSEFSON, D. Obesity and inactivity fuel global cancer epidemic. **British Medical Journal**. v., 322, n. 7292, p. 945, 2001.
127. KANG, M.L.; CHO, C. S.; YOO, H. S. Application of chitosan microspheres for nasal delivery of vaccines. **Biotechnology Advances**. v. 27, n. 6, p. 857–865, 2009.
128. KARAVANA, S. Y.; GÜNERI, P.; ERTAN, G. Benzydamine hydrochloride buccal bioadhesive gels designed for oral ulcers: Preparation, rheological, textural, mucoadhesive and release properties. **Pharmaceutical Development and Technology**. v. 14, n. 6, p. 623-631, 2009.
129. KAST, C. E., et al. A. Design and in vitro evaluation of a novel bioadhesive vaginal drug delivery system for clotrimazole. **Journal of controlled release**. v. 81, n. 3, p. 347– 354, 2002.

130. KAYACAN, S. et al. The Effects of Apigenin and Curcumin on Autophagy Related Cell Death and Apoptosis. **Proceedings**. v. 2, n. 25, p. 1586, 2018.
131. KESSENBROCK, K. et al. Matrix metalloproteinases in stem cell regulation and cancer. **Matrix biology**. v. 44, n. 184-190, 2015.
132. KHATRI, S., LOHANI, P., GANDHI, S. Nanoemulsions in cancer therapy. **Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 3, p. 124-133, 2013.
133. KIM, S. Competitive Biological Activities of Chitosan and Its Derivatives: Antimicrobial, Antioxidant, Anticancer, and Anti-Inflammatory Activities. **International Journal of Polymer Science**. v. 2018, 13p, 2018.
134. KLUG, H. P.; ALEXANDER, L. E. X-ray Diffraction Procedures for polycrystalline and amorphous materials, John Wiley & Sons, New York, 1954.
135. KOBAYASHI, H.; WATANABE, R.; CHOYKE, P. L. Improving Conventional Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effects; Whats Is the Appropriate Target? **Theranostics**. v. 4, n. 1, p. 81-89, 2014.
136. KOIDE S.S. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. **Nutrition Research**. v. 18, p. 1091–101, 1998.
137. KOIVUNEN, E. et al. Tumor targeting with a selective gelatinase inhibitor. **Nature biotechnology**. v. 17, n. 8, p. 768-774, 1999.
138. KONO, K., et al. Highly temperature-sensitive liposomes based on a thermosensitive block copolymer for tumor-specific chemotherapy. **Biomaterials**. v. 31, p. 7096-7105, 2010.
139. KREMER, J.M., et al. Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. **Arthritis & Rheumatology**. v. 33, p. 810-820, 1990.
140. KUMAR MNVR. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**. v. 46, p. 1–27, 2000.
141. KUMAR, M. N. V. R., et al. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**. v. 104, n. 12, p. 6017–6084, 2004.
142. KUNNUMAKKARA, A. B.; ANAND, P.; AGGARWAL, B. B. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. **Cancer Letters**. v. 269, n. 2, p. 199-225, 2008.

143. LAHOUD, M. H.; CAMPOS, R. Aspectos teóricos relacionados à reologia farmacêutica. **Visão Acadêmica**. v. 11, n. 1, p. 65-73, 2010.
144. LARDINOIS, C.K. The role of omega 3 fatty acids on insulin secretion and insulin sensitivity. **Medical Hypotheses**. v. 24, p. 243-248, 1987.
145. LAO, C. D., et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 6, n. 10, 2006.
146. LEE, A. Y. L., et al. Curcumin Inhibits Invasiveness and Epithelial-Mesenchymal Transition in Oral Squamous Cell Carcinoma Through Reducing Matrix Metalloproteinase 2, 9 and Modulating p53-E-Cadherin Pathway. **Integrative Cancer Therapies**. v. 14, n. 5, p. 484–490, 2015.
147. LECHUGA-BALLESTEROS, D.; ABDUL-FATTAH, A.; STEVENSON, C.L., BENNETT, D.B. Properties and stability of a liquid crystal form of cyclosporine—the first reported naturally occurring peptide that exists as a thermotropic liquid crystal. **Journal of pharmaceutical sciences**. v. 92, p. 1821-1831, 2003.
148. LEIGHTON, J.; NASSAUER, J.; TCHAO, R. The chick embryo in toxicology: an alternative to the rabbit eye. **Food and chemical toxicology**. v. 23, p. 293-298, 1985.
149. LI, C.Y. et al. Sulfonate-modified phenylboronic acid-rich nanoparticles as a novel mucoadhesive drug delivery system for vaginal administration of protein therapeutics: improved stability, mucin-dependent release and effective intravaginal placement. **International Journal of Nanomedicine**. v. 11, p. 5917 - 5930, 2016.
150. LI, C.-Y., et al. Initial stages of tumor cell-induced angiogenesis: evaluation via skin window chambers in rodent models. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 92, p. 143-147, 2000.
151. LI, Y., et al. Biodegradable polymer nanogels for drug/nucleic acid delivery. **Chemical reviews**. v. 115, p. 8564-8608, 2015.
152. LINOS, A., et al. The effect of olive oil and fish consumption on rheumatoid arthritis—a case control study. **Scandinavian Journal of Rheumatology**. v. 20, p. 419-426, 1991.
153. LIPWORTH, L., et al. Olive oil and human cancer: an assessment of the evidence. **Preventive Medicine**. v. 26, p. 181-190, 1997.
154. LIU, J.; BU, W.; PAN, L.; SHI, J. NIR-triggered anticancer drug delivery by upconverting nanoparticles with integrated azobenzene-modified mesoporous silica. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 52, p. 4375-4379, 2013.

155. LOCK, K.; POMERLEAU, J.; CAUSER, L.; MCKEE, M. Low fruit and vegetable consumption, Comparative Quantification of Health Risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. **World Health Organization**. v. 83, n.2, p. 597-728, 2004.
156. LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.
157. MACHADO, J. C. Fundamentos e Classificação de Fluidos Viscosos. Reologia e Escoamento de Fluidos– Ênfase na indústria do petróleo. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2002.
158. MAIOR, J. F. A. S.; REIS, A.V.; MUNIZ, E.C.; CAVALCANTI, O.A. Reaction of pectin and glycidyl methacrylate and ulterior formation of free films by reticulation. **International journal of pharmaceutics**. v. 355, p. 184-194, 2008.
159. MALAM, Y.; LOIZIDOU, M.; SEIFALIAN, A.M. Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. **Trends in pharmacological sciences**. v. 30, p. 592-599, 2009.
160. MALMSTEN, M. Surfactants and Polymers in Drug Delivery. **Journal of the American Chemical Society**. v. 125, n. 11, p. 3400, 2003
161. MANAIA, E. B. Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos multifuncionais contendo nanopartículas de TiO₂ para proteção solar e liberação controlada de terpinem-4-ol. 2012. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2012.
162. MARTIN-MORENO, J.M., et al. Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. **International Journal of Cancer**. v. 58, p. 774-780, 1994.
163. MARTINEZ- GUERRA, J. et al. New insights on the Chemical Stability of Curcumin in Aqueous Media at Different pH: Influence of the Experimental Conditions. **International Journal of Electrochemical Science**. v. 14, p. 5373 – 5385, 2019.
164. MATSUMURA, Y.; KATAOKA, K. Preclinical and clinical studies of anticancer agent-incorporating polymer micelles. **Cancer science**. v. 100, p. 572-579, 2009.
165. MAZZARINO, L.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e Caracterização Farmacotécnica de Formas Farmacêuticas Semi- Sólidas Contendo Nimesulida. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 26, n. 3, p. 415-419, 2007.

166. MERINO-BOHÓRQUEZ, V. et al. Physicochemical stability of a new topical timolol 0.5% gel formulation for the treatment of infant hemangioma. **Pharmaceutical development and technology**. v. 20, n. 5, p. 562-569, 2015.
167. MEZZENGA, R. et al, Nature-Inspired Design and Application of Lipidic Lyotropic Liquid Crystals. **Advanced Materials**. v. 31, n. 35, p. 1-19, 2019.
168. MILES, E.A.; CALDER, P.C. Modulation of immune function by dietary fatty acids. **Proceedings of the Nutrition Society**. v. 57, p. 277-292, 1998.
169. MUELLER-GOYMANN, C. C.; FRANK, S. G.; Interaction of lidocaine and lidocaine- HCl with the liquid crystal structure of topical preparations. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 29, n. 2, p. 147-159, 1986.
170. MULROONEY, H.M.; GRIMBLE, R.F. Influence of butter and of corn, coconut and fish oils on the effects of recombinant human tumour necrosis factor-alpha in rats. **Clinical science (London)**. v. 84, p. 105-112, 1993.
171. MULVAD, G., et al. The Inuit diet. Fatty acids and antioxidants, their role in ischemic heart disease, and exposure to organochlorines and heavy metals. An international study. **Arctic medical research**. v. 55, p. 20-24, 1996.
172. MUÑOZ, N. et al. Epidemiological classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **The new england journal of medicine**. v. 348, n. 6, p. 518 – 527, 2003.
173. NAGY, J.A.; et al. Heterogeneity of the tumor vasculature. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**. v. 36, n. 3, 321- 331, 2010.
174. NAGY, J.A.; DVORAK, A.M.; DVORAK, H.F. VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis. **Annual Review of Pathology Mechanisms of Disease**. v. 2, p. 251-275, 2007.
175. NASONGKLA, N., et al. Multifunctional polymeric micelles as cancer-targeted, MRI-ultrasensitive drug delivery systems. **Nano letters**. v.6, p. 2427-2430, 2006.
176. NAVARRO, V. P. et al. A participação das metaloproteinases da matriz nos processos fisiopatológicos da cavidade bucal. **Revista Odontologia da UNESP**. v.35, n. 4, p. 233-38, 2006.
177. NEVES, J.; AMIJI, M.; SARMENTO, B. Mucoadhesive nanosystems for vaginal microbicide development: friend or foe? **WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology**. v.3, n. 4, p. 389-399, 2011.

178. NOBORU, L. Avaliação do potencial de nanodispersões de cristal líquido funcionalizadas com cetuximabe na veiculação de docetaxel para o tratamento do câncer de próstata. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2018.
179. NUKAMA Y. Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications. Chapter 15 – Surfactants. 231-244, 2017.
180. OLIVEIRA, M. B. et al. Development, characterization, and in vitro biological performance of fluconazole-loaded microemulsions for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis. **BioMed Research International**. v. 2015, 12 pages, 2015.
181. OLIVEIRA, M. I., et al. Chitosan drives anti-inflammatory macro- phage polarisation and pro-inflammatory dendritic cell stim- ulation. **European Cells and Materials**. v. 24, p. 136–153, 2012.
182. OYAFUSO, M. H. et al. Design and Characterization of Silicone and Surfactant Based Systems for Topical Drug Delivery. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**. v. 15, n. 1, p. 817-826, 2015.
183. PANAGIOTAKOS, D.B., et al. Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors. **International Journal of Epidemiology**. v. 38, p. 856-866, 2009.
184. PAPADOPOULOU, V. et al. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 309, n. 1-2, p. 44–50, 2006.
185. PARK, J.W. Liposome-based drug delivery in breast cancer treatment. **Breast Cancer Research**. v. 4, n. 3, p. 95-99, 2002.
186. PEEK, M., NORMAN, T., MORGAN, C., MARKHAM, R., FRASER, I. The chick chorioallantoic membrane assay: an improved technique for the study of angiogenic activity. **Experimental pathology**. v. 34, p. 35-40, 1988.
187. PÉNZES, T.; CSOKA, I.; ERŐS, I. Rheological analysis of the structural properties effecting the percutaneous absorption and stability in pharmaceutical organogels. **Rheologica Acta**. v. 43, n. 5, p. 457-463, 2004.
188. PERIOLI, L. et al. Rheological and functional characterization of new antiinflammatory delivery systems designed for buccal administration. **International journal of pharmaceutics**. v. 356, n. 1-2, p. 19-28, 2008.

189. PETO, J. Cancer epidemiology in the last century and the next decade. **Nature**. v. 411, p. 390 - 395, 2001.
190. PETO, R., et al. Smoking, smoking cessation, and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. **British Medical Journal**. v. 321, p. 323-329, 2000.
191. PEZZINI, B.R.; SILVA, M.A.S.; FERRAZ, H.G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, p. 491-502, 2007.
192. PINTO, I. C., et al. Development and validation of an analytical method using high performance liquid chromatography (HPLC) to determine ethyl butylacetylaminopropionate in topical repellent formulations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 53, n. 2, p. 1–8, 2017.
193. PRABAHARAN M. Chitosan derivatives as promising materials for controlled drug delivery. **Journal of Biomaterials Applications**. v. 23, n. 1, p. 5–36, 2008.
194. PRICE, J., BARRY, M., ANDREWS, I. The use of the chick chorioallantoic membrane to predict eye irritants. **Food and Chemical Toxicology**. v. 24, p. 503-505, 1986.
195. RADAIC, A. et al. Studying the interactions between nanoparticles and biological systems. **Química Nova**. v. 39, n. 10, p. 1236-1244, 2016.
196. RAMOS, M.A.S. et al. Syngonanthus nitens Bong. (Rhul.)-loaded nanostructured system for vulvovaginal candidiasis treatment. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 17, n. 8, 2016.
197. RAMOS, M.A.S., et al. Liquid crystal precursor mucoadhesive system as a strategy to improve the prophylactic action of Syngonanthus nitens (Bong.) Ruhland against infection by Candida krusei. **International Journal of Nanomedicine**. v. 10, p. 7455-7466, 2015.
198. RAPOPORT, N. Physical stimuli-responsive polymeric micelles for anti-cancer drug delivery. **Progress in Polymer Science**. v. 32, p. 962-990, 2007.
199. RAVAL, K.M. et al. Microbial biotransformation: Pharmaceutical peptides. **Journal of Biological and Food Science Research**. v. 1, n. 1, p. 1-14, 2012.
200. REHM, J., et al. Alcohol as a risk factor for global burden of disease. **European addiction research**. v. 9, p. 157-164, 2003.

201. RIBATTI, D., et al. Chorioallantoic membrane capillary bed: a useful target for studying angiogenesis and anti-angiogenesis in vivo. **The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists**. v. 264, p. 317-324, 2001.
202. RICCI, M., et al. Ketoprofen controlled release from composite microcapsules for cell encapsulation: effect on post-transplant acute inflammation. **Journal of controlled release**. v. 107, p. 395-407, 2005.
203. RITGER, P.; PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**. v. 5, n. 1, p. 37- 42, 1987.
204. RODERO, C., et al. Curcumin-Loaded Liquid Crystalline Systems for Controlled Drug Release and Improved Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. **Molecular Pharmaceutics**. v. 15, n. 10, p. 4491–4504, 2018.
205. RODERO, C., et al. Sistemas líquido-cristalinos como potencial estratégia para administração vaginal de curcumina no tratamento da candidíase vulvovaginal. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2017.
206. ROWE, R.C.; SHESKEY, P. J.; WELLER, P. J.; Handbook of Pharmaceutical Excipients. 4 ed. Washington, DC: American Pharmaceutical Association/Pharmaceutical Press, 2003.
207. ROY, M.; MUKHERJEE, S. Reversal of Resistance towards Cisplatin by Curcumin in Cervical Cancer Cells. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. v. 15, n. 13, p. 1403 – 1410, 2014.
208. SALES-CAMPOS H. et al. An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. v. 13, p. 201-210, 2013.
209. SALMAZI, R. A, et al. Curcumin-loaded liquid crystal precursor mucoadhesive system for the treatment of vaginal candidiasis. **International Journal of Nanomedicine**. v. 10, n. 1, p. 4815 - 4824, 2015.
210. SAVIC, S., et al. An alkyl polyglucoside-mixed emulsifier as stabilizer of emulsion systems: The influence of colloidal structure on emulsions skin hydration potential. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 358, n. 1, p. 182-191, 2011.
211. SAXENA, A.; KALOTI, M.; BOHIDAR, H. B. Rheological properties of binary and ternary protein-polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of

- salbutamol sulphate from their matrices. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 48, n. 2, p. 263–270, 2011.
212. SCHIPPER, N. G., et al. Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs 2: mechanism of absorption enhancement. **Pharmaceutical Research**. v. 14, p. 923–929, 1997.
 213. SCHRAMM, G. *Reologia e Reometria: Fundamentos Teóricos e Práticos*. 2 ed. São Paulo: Artliber, 2006.
 214. ŞENYIGIT, T. et al. Deoxycholate hydrogels of betamethasone-17-valerate intended for topical use: In vitro and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 403, n. 1–2, p. 123–129, 2011.
 215. SEYFRIED, T.N.; SHELTON, L.M. Cancer as a metabolic disease. **Nutrition & metabolism**. v. 7, n. 7, 2010.
 216. SHAH, J. C.; SADHALE, Y.; CHILUKURI, D.M.; Cubic phase gels as drug delivery systems. **Advanced drug delivery reviews**. v. 47, n. 2-3, p. 229-250, 2001.
 217. SHANHOLTZ, C. Acute life-threatening toxicity of cancer treatment. **Critical care clinics**. v. 17, p. 483-502, 2001.
 218. SHARMA, R.A.; GESCHER, A.J.; STEWARD, W. P. Curcumin: The story so far. **European Journal of Cancer**. v. 41, n. 13, p. 1955-1968, 2005.
 219. SHEHZAD, A.; LEE, Y. S. Molecular Mechanisms of Curcumin Action: Signal Transduction. **BioFactors**. v. 39, n. 1, p. 27-36, 2013.
 220. SHI, S.; CHEN, L.; HUANG, G. Antiangiogenic therapy improves the antitumor effect of adoptive cell immunotherapy by normalizing tumor vasculature. **Medical Oncology**. v. 30, n. 4, p. 698, 2013.
 221. SIEGEL, R.L., MILLER, K.D. Cancer statistics. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. v. 69, n. 1, p. 7-34, 2019.
 222. SILVA, P.B. et al. Nanotechnological strategies for vaginal administration of drugs - a review. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. v. 10, p. 2218-2243, 2014.
 223. SIMONSEN, N.R., et al. Tissue stores of individual monounsaturated fatty acids and breast cancer: the EURAMIC study. European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 68, p. 134-141, 1998.

224. SINGH, M.; SINGH, N. Molecular mechanism of curcumin induced cytotoxicity in human cervical carcinoma cells. **Molecular and Cellular Biochemistry**. v. 325, n. 1-2, p. 107–119, 2009.
225. SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International journal of pharmaceutics**. v. 224, p. 19-38, 2001.
226. SINHA, V.; TREHAN, A. Biodegradable microspheres for protein delivery. **Journal of controlled release**. v. 90, p. 261-280, 2003.
227. SLAYMAKER, E.; WALKER, N.; ZABA, B.; COLLUMBIEN, M. Unsafe sex, Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. World Health Organization. Geneva, 2004.
228. SMART, J. D. et al. The retention of C-labelled poly(acrylic acids) on gastric and oesophageal mucosa: an in vitro study. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 20, n. 6, p. 83-90, 2003.
229. SOLANAS, M., et al. Effects of a high olive oil diet on the clinical behavior and histopathological features of rat DMBA- induced mammary tumors compared with a high corn oil diet. **International Journal of Oncology**. v. 21, p. 745-753, 2002.
230. SONI, S. S., et al. Quantitative SAXS analysis of the P123/water/ethanol ternary phase diagram. **The Journal of Physical Chemistry B**. v. 110, n. 31, p. 15157–15165, 2006.
231. SUN, M., et al. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin. **Nanomedicine**. v. 7, n. 7, p. 1085–1100, 2012.
232. SZAKÁCS, G., et al. Targeting multidrug resistance in cancer. **Nature reviews Drug discovery**. v. 5, n. 3, p. 219 - 234, 2006.
233. TAGAMI, T., et al. Anti-angiogenic therapy via cationic liposome-mediated systemic siRNA delivery. **International journal of pharmaceutics**. v. 422, p. 280-289, 2012.
234. TAI, A.; BIANCHINI, R.; JACHOWICZ, J. Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. **International Journal of Cosmetic Science**. v. 36, n. 4, p. 291-304, 2014.
235. TAKEUCHI, H., et al. Novel mucoadhesion tests for polymers and polymer- coated particles to design optimal mucoadhesive drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 57, n. 11, p. 1583–1594, 2005.
236. TERES, S., et al. Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 105, p. 13811-13816, 2008.

237. THE CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. **Nature**. v. 543, p. 378- 384, 2017.
238. TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Studies on curcumin and curcuminoids. VI. Kinetics of curcumin degradation in aqueous solution. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**. v. 180, n. 5, 402 – 404, 1985.
239. TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J.; VANHENEGOUWEN, G.B.. Studies on curcumin and curcuminoids. 8. Photochemical stability of curcumin. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**. v. 183, p. 116 - 122, 1986.
240. TØNNESEN, H.H., ed. Photostability of drugs and drug formulations. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. 435p.
241. TORCHILIN, V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 63, 3, 131-135, 2011.
242. TSIMIKAS, S.; REAVEN, P.D. The role of dietary fatty acids in lipoprotein oxidation and atherosclerosis. **Current Opinion in Lipidology**. v. 9, p. 301-307, 1998.
243. USP 33. The United States Pharmacopoeia: The National Formulary; NF 28. Rockville United States Pharmacopeial Convention, 2010.
244. VALDES, T.; KREUTZER, D.; MOUSSY, F. The chick chorioallantoic membrane as a novel in vivo model for the testing of biomaterials. **Journal of Biomedical Materials Research**. v. 62, n. 2, p. 273-282, 2002.
245. VALENTA, C. The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 57, n. 11, p. 1692- 1712, 2005.
246. VAN MEIR, H., et al. Impact of (chemo) radiotherapy on immune cell composition and function in cervical cancer patients. **Oncoimmunology**. v. 6, n. 2, 2017.
247. VARGAS, A., et al. The chick embryo and its chorioallantoic membrane (CAM) for the in vivo evaluation of drug delivery systems. **Advanced drug delivery reviews**. v. 59, p. 1162-1176, 2007.
248. VICTORELLI, F. D., et al. Metronidazole-Loaded Polyethyleneimine and Chitosan-Based Liquid Crystalline System for Treatment of Staphylococcal Skin Infections. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. v. 14, n. 1, p. 227-237, 2018.
249. WANG, Z., et al. Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. **Seminars in Cancer Biology**. v. 35, p. 224–243, 2015.

250. WANG, L.J., et al. Targeting Slit–Roundabout signaling inhibits tumor angiogenesis in chemical-induced squamous cell carcinogenesis. **Cancer Science**. v. 99, p. 510-517, 2008.
251. WANG, Y. J., et al. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 15, n. 12, p. 186776, 1997.
252. WANG, Z., et al. Targeting miRNAs involved in cancer stem cell and EMT regulation: An emerging concept in overcoming drug resistance. **Drug resistance updates**. v. 13, p. 109-118, 2010b.
253. WHO World Health Organization.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>. Acesso em: 02 Janeiro 2020.
254. WONG, T.W.; DHANAWAT, M.; RATHBONE, M.J. Vaginal drug delivery: strategies and concerns in polymeric nanoparticle development. **Expert Opinion on Drug Delivery**. v. 11, n. 9, p. 1419-1434, 2014.
255. YARIV, D. et al. In vitro permeation of diclofenac salts from lyotropic liquid crystalline systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 78, n. 2, p. 185–192, 2010.
256. YANG, X., et al. Tumor-Targeting, pH-Responsive, and Stable Unimolecular Micelles as Drug Nanocarriers for Targeted Cancer Therapy. **Bioconjugate Chemistry**. v. 21, n. 3, p. 496-504, 2010.
257. YANG, M., et al. Vaginal Delivery of Paclitaxel via Nanoparticles with Non-Mucoadhesive Surfaces Suppresses Cervical Tumor Growth. **Advanced Healthcare Materials**. v. 3, n. 7, p. 1044-1052, 2014.
258. YAQOOB, P. Monounsaturated fats and immune function. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 31, p. 453-465, 1998.
259. YOUSEF, S. A. et al., Mechanistic Evaluation of Enhanced Curcumin Delivery through Human Skin In Vitro from Optimised Nanoemulsion Formulations Fabricated with Different Penetration Enhancers. **Pharmaceutics**. v.11, n. 12, 2019.
260. YUAN, Y.-J., et al. Application of the chick embryo chorioallantoic membrane in neurosurgery disease. **International journal of medical sciences**. v. 11, n. 12, p. 1275 - 1281, 2014.
261. ZEITLIN, B.D.; DONG, Z.; NÖR, J.E. RAIN-Droplet: a novel 3D in vitro angiogenesis model. **Laboratory investigation**. v. 92, 988-998, 2012.

262. ZICHE, M. Corneal assay for angiogenesis, Angiogenesis protocols. **Springer**. v. 46, p. 131-142, 2001.
263. ZONG, S. et al. The use of cisplatin-loaded mucoadhesive nanofibers for local chemotherapy of cervical cancers in mice. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 93, p. 127-135, 2015.