

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 09/12/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE
ARARAQUARA

FLÁVIO AUGUSTO SANCHES POLITI

Avaliação do potencial de filmes bioadesivos contendo piperina encapsulada em nanopartículas poliméricas no tratamento de doenças inflamatórias cutâneas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientadora: Leila Aparecida C. Favorin

Araraquara

2022

FLÁVIO AUGUSTO SANCHES POLITI

Avaliação do potencial de filmes bioadesivos contendo piperina encapsulada em nanopartículas poliméricas no tratamento de doenças inflamatórias cutâneas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientadora: Leila Aparecida C. Favorin

Araraquara

2022

P769a Politi, Flávio Augusto Sanches.
Avaliação do potencial de filmes bioadesivos contendo piperina encapsulada em nanopartículas poliméricas no tratamento de doenças inflamatórias cutâneas / Flávio Augusto Sanches Politi. – Araraquara: [S.n.], 2022.
87 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Bacteriologia.

Orientador: Marlus Chorilli.
Coorientadora: Leila Aparecida C. Favorin.

1. Eudragit® S100. 2. Ácido hialurônico. 3. Nanoprecipitação. 4. Piperaceae. 5. Membranas poliméricas. 6. Alginato de sódio. I. Chorilli, Marlus, orient. II. Favorin, Leila Aparecida C., coorient. III. Título.

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

CAPES: 33004030081P7
Esta ficha não pode ser modificada

*Aos meus saudosos pais, José Américo
Politi e Delci Aparecida Sanches Politi,
que me deixaram como legado uma
educação irrepreensível e uma
formação moral exemplar.*

Educar verdadeiramente não é ensinar fatos novos ou enumerar fórmulas prontas, mas sim preparar a mente para pensar.

Albert Einstein

O Homem que não cultiva o hábito de pensar desperdiça um dos maiores prazeres da vida e não consegue aproveitar o máximo de si.

Thomas A. Edison

AGRADECIMENTOS

- Ao professor Marlus Chorilli pela orientação, amizade e ensinamentos;
- À professora Leila Aparecida C. Favorin pela coorientação;
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida durante parte do desenvolvimento do trabalho;
- Aos colegas de laboratório que auxiliaram em diversos momentos: Suzana Carvalho, Maurício Palmeira, Aline Martins, Camila Roderio, Andréia Meneguim, Rodrigo Sorrechia, dentre outros.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01. Referências do potencial anti-inflamatório apresentado pela piperina.	17
Tabela 02. Condições cromatográficas empregadas na metodologia analítica. Erro! Indicador não definido.	
Tabela 03. Caracterização das nanopartículas com e sem incorporação da piperina segundo os parâmetros tamanho (nm), índice de polidispersividade (PDI) e potencial zeta (mV). Erro! Indicador não definido.	
Tabela 04. Parâmetros avaliados para adequabilidade do sistema cromatográfico. Indicador não definido.	Erro!
Tabela 05. Análise de variância da regressão linear da curva analítica de piperina.	55
Tabela 06. Repetibilidade (intra-ensaio) e precisão intermediária (inter-ensaio). Indicador não definido.	Erro!
Tabela 07. Valores de porcentagem de recuperação (média $\pm$ DP) obtidos no ensaio de determinação da exatidão do método analítico proposto.	56
Tabela 08. Eficiência de incorporação do fármaco piperina.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 09. Parâmetros analisados na caracterização mecânica dos filmes de ácido hialurônico (AH)/alginato de sódio (AS). Os resultados são expressos como a média $\pm$ desvio padrão.	59
Tabela 10. Perfil de intumescimento dos filmes A4, D3 e G4.	62
Tabela 11. Classificação da permeabilidade ao vapor de água (PVA).	64
Tabela 12. Coeficiente de correlação e parâmetros dos modelos matemáticos de cinética de liberação do fármaco. Erro! Indicador não definido.	
Tabela 13. Interpretação dos mecanismos de liberação a partir dos filmes poliméricos para sistemas esféricos.	69
Tabela 14. Medidas da extensão (mm) das áreas descoloridas por quadrante relativas ao ensaio de citotoxicidade (método de difusão em ágar).	71
Tabela 15. Resultados qualitativos de citotoxicidade.	73
Tabela 16. Resultados de inflamação e redução da inflamação (média $\pm$ DP).	74

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 01. Representação esquemática das nanopartículas poliméricas: (A) Fármaco dissolvido no núcleo lipofílico da nanocápsula; (B) Fármaco retido na membrana polimérica externa; (C) Fármaco retido na superfície da matriz polimérica; (D) Fármaco distribuído uniformemente pela matriz polimérica. 18
- Figura 02. Estrutura molecular do Eudragit[®] S100. A proporção dos grupos carboxílicos (RCOOH) para os grupos ésteres (RCOOR') é de aproximadamente 1:2. 19
- Figura 03. Estrutura molecular do alginato. 20
- Figura 04. Estrutura molecular do ácido hialurônico. 21
- Figura 05. Estrutura molecular da piperina. 22
- Figura 06. Ilustração esquemática do método de nanoprecipitação. 24
- Figura 07. Processador líquido ultrassônico QSonica Q700. (A) Amostra em banho de gelo (v = 20 mL). (B) *Probe* de 1/2" (12,7 mm) equipada com *tip* de titânio. (C) Equipamento ajustado com 4 W de força durante t = 45 minutos. 26
- Figura 08. Análises mecânicas dos filmes de ácido hialurônico (AH)/alginato de sódio (AS). (A) Micrômetro digital MDC-lite (Mitutoyo) (B) Filme com boas propriedades mecânicas observadas macroscopicamente (espessura, maleabilidade e resistência à tração; observar a transparência e homogeneidade da membrana); (C) Filme com propriedades mecânicas indesejáveis (quebradiça e pouco maleável; observar as rugosidades na superfície da membrana); (D) Seções de filme para análises de resistência à perfuração (Rp) e energia de perfuração por unidade de volume (EP); (E) Analisador universal de textura TA-XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, UK); (F) Detalhe de uma seção de filme disposta sobre a prancha de acrílico do texturômetro. 33
- Figura 09. Ensaio para determinação do perfil de intumescimento dos filmes de AH/AS. (A) Dispositivo de Enslin adaptado, utilizando-se uma pipeta de 2 mL; (B) Seção de filme de cerca de 1 cm², previamente pesado, alocado na base de vidro sinterizado do funil do dispositivo. 35

- Figura 10. Ensaio de permeabilidade ao vapor d'água. (A) Seções circulares dos filmes poliméricos, com diâmetro similar ao do frasco de vidro utilizado, foram recortadas e fixadas na superfície interna da tampa. O sistema foi pesado inicialmente e após 24, 48, 72, 96 e 120 horas; (B) Frascos acondicionados em dessecador contendo sílica gel, diariamente trocada. 36
- Figura 11. Teste de bioadesão. (A) No detalhe, o filme de AS/AH contendo o fármaco piperina dispersado em sua matriz. Os filmes foram recortados, de modo a serem obtidas seções de cerca de 2 cm²; (B) Analisador universal de textura TA-XT2 equipado com sonda específica para o modo *Adesive Test*. 37
- Figura 12. Equipamento utilizado para os estudos de liberação e permeação *in vitro*. (A) Hanson Microette[®] (Hanson 0700-1251) com coletor automático; (B) Detalhe das células de Franz montadas com membrana de celulose de 0,45 µm. 38
- Figura 13. Curva analítica obtida a partir do ensaio de solubilidade para se determinar as condições *sink* a serem empregadas nos ensaios de liberação e permeação *in vitro* das nanopartículas (NPs) de piperina. 39
- Figura 14. Dermatômização de orelhas de porco compradas junto à empresa Frigodelis Ltda. para ensaio de permeação cutânea *in vitro*. (A) Extração de seções de pele com auxílio de dermatômetro; (B) As seções de pele foram estendidas em folha de PVC e acondicionados em pacotes de alumínio, mantidos em freezer a -4 °C até seu uso. 39
- Figura 15. Diâmetro médio (nm) – representado pelas barras – e índice de polidispersão – representado pelos pontos – das nanopartículas com e sem sonicação. 45
- Figura 16. Gráfico de intensidade em função da distribuição de tamanho. (A) Bco; (B) Bco S; (C) NPPi; (D) NPPi S. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 17. Gráficos da concentração em relação ao tamanho, obtidos por análise de rastreamento de nanopartículas (NTA). (A) Bco; (B) Bco S; (C) NPPi; (D) NPPi S. As barras de erro em vermelho indicam +/- 1 desvio padrão. 46
- Figura 18. Curvas de TG-DSC a 800 °C. (A) Amostras liofilizadas de nano branco (Bco); (B) Amostras liofilizadas de nano piperina (NPPi). 48
- Figura 19. Curvas DSC das amostras Bco e NPPi. 49
- Figura 20. Espectros de FTIR. (A) Sobreposição das 5 amostras; (B) Eudragit[®] S100; (C) Poloxamer 188; (D) NP Bco; (E) Piperina; (F) NPPi. 49

- Figura 21. Cromatogramas obtidos para o ensaio de seletividade/especificidade utilizando coluna de fase reversa C18 XSelect HSS 5 μm 4,6 x 150 mm (Waters, USA). (A) Cromatograma do diluente (metanol). (B) Cromatograma da amostra placebo. (C) Cromatograma da amostra NPPi. (D) Cromatograma do padrão de piperina (97,5% pureza). (E) Sobreposição dos cromatogramas A-D (azul: metanol; verde: amostra placebo; preto: amostra NPPi; rosa: piperina). 52
- Figura 22. Curva padrão da piperina obtida pelo método cromatográfico proposto. 53
- Figura 23. Gráficos de resíduos tendo a área como resposta. (A) Gráfico de probabilidade normal. (B) Gráfico de resíduos em função dos valores ajustados. 54
- Figura 24. Microscopia eletrônica de varredura das nanopartículas preparadas pelo método de nanoprecipitação. (A) Branco, aumento $\times 20.000$; (B) Branco S, aumento $\times 100.000$; (C) NPPi, aumento $\times 20.000$; (D) NPPi S, aumento $\times 20.000$. 58
- Figura 25. Gráficos dos parâmetros analisados na caracterização mecânica dos filmes de AH/AS. (A) Espessura; (B) Energia de perfuração por unidade de volume; (C) Resistência a perfuração; (D) Porcentagem de elongação antes da ruptura. 61
- Figura 26. Perfil de intumescimento dos filmes poliméricos de AS/AH. (A) Filme A4 e sua curva de regressão linear; (B) Filme D3 e sua curva de regressão linear; (C) Filme G4 e sua curva de regressão linear. 62
- Figura 27. Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de AS/AH.**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 28. Propriedades mecânicas do filme G4 com a piperina (F_{Pip}) e o nanossistema incorporados (F_{NPPi}). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 29. Força de bioadesão e trabalho de bioadesão do filme de G4 contendo o fármaco (F_{Pip}) e do filme G4 contendo o nanossistema (F_{NPPi}), empregando-se peles de orelhas de porco dermatomizadas. 66
- Figura 30. Perfil de liberação de piperina do filme G4 em meio contendo tampão PBS (pH 7,4), etanol (20%, v/v) e surfactante (Tween[®] 20, 2% v/v). Os resultados são apresentados como a média $\pm$ desvio padrão de 3 replicatas.**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 31. Piperina recuperada da pele de porco dermatomizada após 24 horas de experimento de permeação *in vitro*. (A) Perfil de recuperação de piperina a partir do filme G4 (F_{Pip}); (B) Perfil de recuperação de piperina contida no nanossistema incorporado no filme G4 (F_{NPPi}). 70

Figura 32. Quantidade retida *in vitro* de piperina. (A) Concentração de piperina retida no estrato córneo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$); (B) Concentração de piperina retida na derme + epiderme ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$); (C) Concentração de piperina recuperada no compartimento receptor ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

RESUMO

A piperina é um alcaloide encontrado nos frutos de diversas espécies do gênero *Piper*, e seu potencial anti-inflamatório tem sido amplamente explorado pela medicina tradicional. Entretanto, suas aplicações terapêuticas ainda necessitam serem melhor exploradas devido à sua baixa solubilidade em água. Neste sentido, o foco deste trabalho foi avaliar a eficiência da nanoencapsulação deste composto bem como sua incorporação em biomembranas sintetizadas a partir de polímeros de origem natural, em ordem a contornar a limitação de uso devido sua hidrofobicidade, e assim, testar sua ação anti-inflamatória contra um modelo de edema de orelha utilizando camundongos albinos Swiss. Para a síntese das nanopartículas, a técnica de nanoprecipitação foi empregada, obtendo-se nanopartículas esféricas com diâmetro médio de $122,1 \pm 2,0$ nm, distribuição estreita de tamanho (índice de polidispersividade $0,266 \pm 0,044$) e eficiência de encapsulação de $76,2 \pm 0,102\%$, as quais permaneceram estáveis por até 60 dias após seu preparo. Entre as diferentes membranas sintetizadas, foi escolhida aquela que demonstrou possuir boa resistência e maleabilidade e que apresentou taxa de permeabilidade ao vapor d'água e porcentagem de intumescimento favoráveis à liberação controlada da piperina. Através dos ensaios de liberação *in vitro*, verificou-se que tanto o filme sintetizado com a piperina (F_{Pip}) quanto o filme sintetizado com as nanopartículas (F_{NPPi}) apresentaram modelo de cinética não Fickiano. A respeito da permeação, uma taxa de passagem lenta foi observada até as 14 horas iniciais, quando um aumento exponencial na concentração da droga recuperada começou a ocorrer. Isto é uma característica farmacocinética positiva quando pensamos na aplicação local de um anti-inflamatório, desde que sua taxa de penetração nas camadas da pele é bastante lenta, evitando assim uma ação sistêmica. O ensaio *in vivo* mostrou uma redução na inflamação de cerca de 43,6%, e nenhuma citotoxicidade contra fibroblastos foi observada.

Palavras-chave: Eudragit[®] S100; ácido hialurônico; nanoprecipitação; Piperaceae; membranas poliméricas; alginato de sódio.

ABSTRACT

Piperine is an alkaloid mostly found in the fruits of several species of the *Piper* genus, and its anti-inflammatory potential has already been widely explored by traditional medicine. However, its therapeutic applications still need to be better explored due to the low aqueous solubility of this active. In this sense, the aim of this work was to evaluate the efficiency of the nanoencapsulation of the compound as well as its incorporation into biomembranes synthesized from natural polymers, in order to circumvent the limitation of its hydrophobicity, and thus, test its anti-inflammatory action against an ear edema model using male Swiss albino mice. For the synthesis of the nanoparticles, the nanoprecipitation technique was used, obtaining spherical nanosized particles with an average diameter of 122.1 ± 2.0 nm, narrow size distribution (polydispersity index 0.266 ± 0.044) and encapsulation efficiency of $76.2 \pm 0.102\%$, which remained stable for at least 60 days. Among the different synthesized films, the one with good strength and malleability was chosen, whose water vapor permeability rate and swelling percentage favored the controlled release of piperine. Regarding permeation, a slow passage rate was observed until the initial 14 hours, when an exponential increase in the recovered drug concentration began to occur. This is a positive pharmacokinetic characteristic when we think about a local anti-inflammatory application of the active, since its penetration rate in the skin layers is quite slow, avoiding systemic action. The *in vivo* assay showed a reduction in inflammation up to 43.6%, and no cytotoxicity against fibroblasts was observed.

Keywords: Eudragit[®] S100; hyaluronic acid; nanoprecipitation; Piperaceae; polymeric membranes; sodium alginate.

1. INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano e, por fazer interface diretamente com o meio externo, é susceptível a sofrer danos e lesões, o que pode levar à invasão por agentes patogênicos, ocasionando diversas desordens imunológicas. O processo inflamatório cutâneo é produzido e mantido pela liberação de vários mediadores pró-inflamatórios, incluindo prostanoídes, aminas vasoativas, citocinas, óxido nítrico (NO), espécies reativas de oxigênio (EROS), entre outros (BUCKLE; HEDGECOCK, 1997). A interação complexa entre essas substâncias e as diferentes células do tecido cutâneo resulta em uma série de eventos celulares e microvasculares, como vasoconstrição seguida de vasodilação, aumento do fluxo sanguíneo, ampliação da permeabilidade vascular, estase sanguínea e migração e recrutamento de leucócitos para o local afetado, levando ao aparecimento de quatro sinais clínicos característicos: dor, calor, rubor e edema (RANG *et al.*, 2016). O contato destas substâncias com seus receptores específicos sinaliza para a produção e liberação de segundos mensageiros, os quais são responsáveis por ativar proteínas quinases (BHAGWAT *et al.*, 1999). A proteína quinase C, uma vez ativada, promove a fosforilação e subsequente degradação das proteínas inibitórias kappa B (IκB), habilitando a translocação do fator nuclear-kappa B (NF-κB) para o núcleo e subsequente transcrição gênica de fatores pró-inflamatórios, tais como as enzimas ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e óxido nítrico sintase, citocinas (IL-1β, IL-6, TNFα), quimiocinas e moléculas de adesão, as quais modulam, mantêm e amplificam o processo inflamatório (BARNES; KARIN, 1997). Essa cadeia de eventos inicia-se como objetivo de erradicar o agente agressor, promover o reparo e restabelecer a homeostase cutânea e, adjacente a ela, são gerados mecanismos para sua regulação e inibição. Porém, por motivos diversos, pode haver uma falha nestes mecanismos, desencadeando o surgimento de doenças inflamatórias e crônicas, tais como a dermatite atópica e a psoríase (WILLIAMS; KUPPER, 1996; WEINDINGER *et al.*, 2018).

A dermatite atópica está relacionada a um estado de reatividade cutânea hiperativada por estímulos inócuos em indivíduos normais (LEUNG *et al.*, 2004). Em aproximadamente 80% dos casos a doença inicia-se antes dos 5 anos de idade, podendo persistir até a fase adulta, sendo caracterizada por xerose, prurido, intenso, eczemas, altos níveis de IgE e eosinofilia (GUTTMAN-YASSKY *et al.*, 2007).

A psoríase é outra doença inflamatória cutânea e apresenta grande prevalência, afetando aproximadamente 3% da população mundial. É caracterizada por hiperproliferação dos queratinócitos e formação de um foco inflamatório e sua

patogênese está associada à integração de infiltrados de leucócitos, quimiocinas, células residentes, diversas citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e eicosanoides presentes no tecido cutâneo, e em quadros mais graves, pode levar ao desenvolvimento de artrite psoriática (NICKOLOFF; NESTLÉ, 2004; KRUEGER; BAWCOCK, 2005).

Estas doenças dermatológicas são caracterizadas por alterações cutâneas que resultam em um aspecto desagradável à pele, afetando significativamente a qualidade de vida dos pacientes por envolverem componentes emocionais, os quais promovem recidivas ou exacerbação das lesões (RUSSEL-JONES *et al.*, 2005). Os anti-inflamatórios corticosteroides são geralmente empregados para reduzir a dor e inflamação resultantes destas lesões, e são usualmente administrados pelas vias oral ou parenteral, contudo, seu uso crônico pode levar a efeitos gastrointestinais bastante severos, incluindo náuseas, dor abdominal e ulceração gástrica, além de interferirem com o efeito de outros terapêuticos, tais como barbitúricos, antiácidos, hipoglicemiantes, contraceptivos, anti-hipertensivos, anti-inflamatórios não esteroidais, entre outros (ANTI *et al.*, 2008).

Com vistas a tentar evitar a ocorrência destes efeitos adversos, bem como propor a aplicação de substâncias diferentes ao que se tem atualmente disponível no mercado, uma opção válida é o emprego de anti-inflamatórios de origem natural. A piperina é um alcaloide isolado de espécies vegetais do gênero *Piper*, sendo bastante abundante nos frutos secos de *Piper nigrum* e *Piper longum* [Piperaceae] (RIBEIRO *et al.*, 2004). No campo farmacêutico, a piperina é descrita por possuir diversas atividades biológicas, sendo as mais recorrentes a atividade anipirética (PARMAR *et al.*, 1997), antifúngica (NAVICKIENE *et al.*, 2000), antioxidante (MITTAL; GUPTA, 2000; VIJAYAKUMAR *et al.*, 2004; SAMYKUTTY *et al.*, 2013), antimutagênica (SELVENDIRAN *et al.*, 2005; WONGPA *et al.*, 2007), antitumoral (SUNILA; KUTTAN, 2004; MANOHARAN *et al.*, 2009; RATHER; BHAGAT, 2018) e principalmente anti-inflamatória (**Tabela 01**).

Tabela 01. Referências do potencial anti-inflamatório apresentado pela piperina.

Modelo	Ação	Referência
Células de melanoma B16F-10	Reduziu a expressão dos genes de IL-1 β , TNF- α , IL-6, GM-CSF (fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos), IL-12p40	PRADEEP & KUTAN (2004)
Artrite	Inibiu a expressão de IL-6, MMP-13 e a produção de PGE2;	BANG <i>et al.</i>

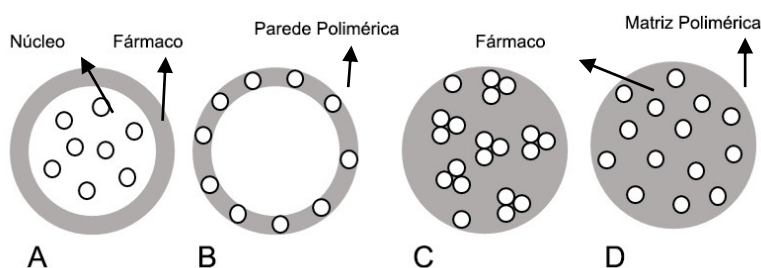
	inibiu a migração de proteína ativadora AP-1 para o núcleo em resposta a IL-1 β	(2009)
Pancreatite aguda	Reduziu o dano histológico e reduziu a atividade da mieloperoxidase no pâncreas; reduziu a produção de fator de necrose tumoral (TNF α), interleucina (IL)-1 β e IL-6; inibiu proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPKs)	BAE <i>et al.</i> (2011)
Artrite gotosa	Inibiu a inflamação induzida por cristais de urato monossódicos; reduziu a contagem de TNF α ; diminuiu a ação de enzimas lisossômicas	SABINA <i>et al.</i> (2011)
Artrite	Administração oral significativamente reduziu os níveis de mediadores inflamatórios (IL-1 β , TNF- α , and PGE2) e aumentou o nível de IL-10	UMAR <i>et al.</i> (2013)
Periodontite	Reduziu a infiltração de células pró-inflamatórias (IL-1 β) e ação de metaloproteinases de matriz (MMP-8 e MMP-13) em tecidos moles	DONG <i>et al.</i> (2015)
Degeneração de disco intervertebral	Inibiu múltiplos fatores inflamatórios (IL-1 β , TNF- α , IL-6, iNOS); MMP-3 e MMP-13; proteínas <i>desintegrina e metaloproteinase com motivos de</i> trombospondina (ADAMTS-4 e 5)	LI <i>et al.</i> (2015)
Edema de pata	Diminuiu a contagem de leucócitos; reduziu a liberação de TNF- α , prostaglandina E2 (PGE2), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e nitrato/nitrito total (NOx)	EL-GHAZALY <i>et al.</i> (2016)
Endometrite	Reduziu a expressão de TNF- α , IL-1 β e IL-6; aumentou a expressão de IL-10; inibiu a fosforilação de II- κ B α , p65, p38, ERK, and JNK de forma dose-dependente	ZHAI <i>et al.</i> (2016)
Inflamação de pulmão	Limitou a elevação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF α) no soro de ratos pré-irradiados com radiação γ	ELKADY & TAWFIK (2018)
Edema de pata	Diminuiu a contagem de leucócitos; reduziu a liberação de TNF- α e IL-1 β	OLIVEIRA <i>et al.</i> (2018)

Outra propriedade interessante do ponto de vista da aplicabilidade desta molécula, diz respeito ao potencial de aumentar a biodisponibilidade de outros fármacos, incluindo antibióticos, antivirais, tuberculostáticos, drogas utilizadas para o tratamento de problemas cardíacos e do sistema nervoso central, além dos AINEs (ATAL; BEDI, 2010). Isto pode ocorrer pela promoção de uma rápida absorção através das interações polares/apolares da sua molécula anfifílica, ou ainda, através da inibição de enzimas do sistema citocromo p450 (CYP450) e da γ -glutamiltanspeptidase (JOHRI *et al.*, 1992), envolvidas na biotransformação destes compostos (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Apesar

destes atrativos, o emprego da piperina enfrenta desafios, devido principalmente às suas características físico-químicas, como baixa solubilidade aquosa, resultando inclusive em restrições farmacocinéticas, tais como reduzida absorção por via oral, metabolismo hepático extenso e rápida excreção. O encapsulamento da piperina em nanopartículas poliméricas é uma estratégia tecnológica muito interessante do ponto de vista de se contornar estas limitações, possibilitando que sejam alcançados sítios específicos de ação a partir de uma liberação sustentada do princípio ativo, além de solucionar eventuais problemas de solubilidade do mesmo.

As nanopartículas poliméricas (NPs) são sistemas rígidos e que apresentam diâmetro inferior a 1 μm , podendo apresentar baixa ou rápida velocidade de bioerosão, dependendo das características dos materiais que as compõem (CASTRO *et al.*, 2020). Dividem-se em dois grupos: i) nanocápsulas, as quais são constituídas por um invólucro polimérico com o fármaco encerrado em seu interior ou aderido na estrutura molecular deste revestimento; ii) nanoesferas, as quais são formadas por uma matriz polimérica maciça com o fármaco aderido na sua superfície ou disperso pela nanopartícula (**Figura 01**) (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Figura 01. Representação esquemática das nanopartículas poliméricas: (A) Fármaco dissolvido no núcleo lipofílico da nanocápsula; (B) Fármaco retido na membrana polimérica externa; (C) Fármaco retido na superfície da matriz polimérica; (D) Fármaco distribuído uniformemente pela matriz polimérica.

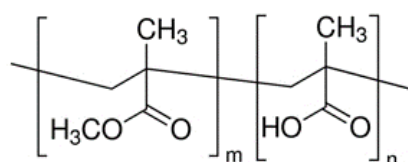


Fonte: Adaptado de SCHAFFAZICK *et al.* (2003).

As NPs podem ser obtidas por diversos métodos de preparo tais como polimerização *in situ*, emulsificação, *salting out* e nanoprecipitação (REIS *et al.*, 2006). Uma outra técnica muito utilizada quando se empregam polímeros ionizáveis é a geleificação ionotrópica, que consiste na adição de um agente reticulante ao polímero disperso em água, organizando as cadeias poliméricas que encapsularão o fármaco

dissolvido ou disperso no sistema (CALVO *et al.*, 1997). Dentre os principais polímeros utilizados para a obtenção de nanopartículas estão o óxido de polietileno (PEO), óxido de polipropileno (PPO), ácido polilático (PLA), policaprolactona (PCL), e poli *L*-ácido láctico-co-ácido glicólico [PLGA] (CALVO *et al.*, 1997), porém, os monômeros ácidos liberados por essas matrizes podem prejudicar a ação dos compostos encapsulados (KUMAR; SARKAR, 2018). Para minimizar este tipo de inconveniente outras substâncias já foram utilizadas para revestimento e formação de NPs, tais como álcool polivinílico (PVA) e poliésteres, ou ainda, biopolímeros como a pectina, alginato e quitosana, os quais apresentam a vantagem de serem bastante estáveis, biocompatíveis e biodegradáveis (LIU *et al.*, 2010; PATIL *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2006). Uma outra possibilidade é o emprego de copolímeros derivados do ácido metacrílico e metilmetacrílico que compõe sistemas pH dependentes, destacando-se o Eudragit[®] R100 e o Eudragit[®] S100 (**Figura 02**). Segundo EL-KAMEL *et al.* (2001), em pH ácido, micropartículas preparadas com Eudragit[®] S100 possuem baixa permeabilidade devido a interações de hidrogênio entre as hidroxilas dos grupos carboxílicos e o oxigênio da carbonila dos grupamentos éster, minimizando a liberação do princípio ativo neste meio.

Figura 02. Estrutura molecular do Eudragit[®] S100. A proporção dos grupos carboxílicos (RCOOH) para os grupos ésteres (RCOOR') é de aproximadamente 1:2.

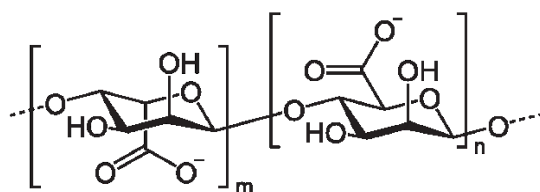


LABOURET *et al.* (1995) relataram a preparação de nanoesferas de Eudragit S[®] 100 e Eudragit[®] R100 através de nanoprecipitação, com uma concentração polimérica entre 20-30%, avaliando a possível aplicação desses sistemas como materiais de revestimento. No estudo, foram realizadas a preparação e caracterização das dispersões coloidais, resultando em partículas com tamanhos entre 40 e 130 nm. Em relação à estabilidade, ambas se apresentaram estáveis tanto a 4 °C quanto a 35 °C durante 6 meses, e a formulação preparada com Eudragit[®] S100 permaneceu estável durante 2 anos.

De forma a viabilizar a administração tópica destas NPs, a utilização de filmes com propriedades bioadesivas constituídos por biopolímeros pode ser interessante, pois estes sistemas permitem um maior tempo de retenção local da substância ativa. O desenvolvimento de filmes para liberação cutânea de fármacos tem sido bastante incentivado devido ao seu baixo custo, à sua facilidade de processamento e propriedades físico-químicas ajustáveis através da síntese (KABANOV *et al.*, 2002; TORCHILIN, 2001). A combinação entre polímeros naturais, seja na forma de complexos e coacervados polieletrólíticos, ou de blendas resultantes da mistura física de dois materiais distintos, tem grande importância na área de biomateriais e possibilita muitas aplicações, uma vez que, por meio destas abordagens, torna-se possível a obtenção de dispositivos com propriedades biológicas, mecânicas e físico-químicas melhoradas relativamente aos polímeros isolados (SIONKOWSKA, 2011). Em trabalho recente, ABOU-OKEIL *et al.* (2018) demonstraram a eficácia de filmes constituídos por uma blenda de ácido hialurônico e alginato de sódio na recomposição da homeostase do tecido dérmico de ratos excisados dorsalmente, bem como comprovaram a atividade antibacteriana de nanopartículas de prata incorporadas nestas formulações.

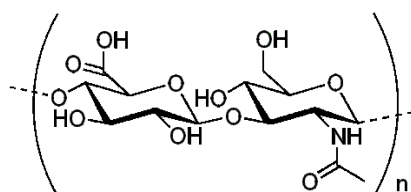
O alginato (**Figura 03**) é um carboidrato coloidal hidrofílico extraído com álcali diluído de várias espécies de algas Phaeophyceae, sendo constituído por subunidades monoméricas de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G) interligados por ligações glicosídicas [1 $\rightarrow$ 4] (SKJK-BRAEK *et al.*, 1986). Estes monômeros podem ser organizados em blocos de resíduos G consecutivos (blocos G-G), resíduos M consecutivos (blocos M-M) ou resíduos alternados de M e G (blocos M-G). É destacável o seu potencial como componente estrutural de filmes e coberturas devido às suas propriedades coloidais únicas, dentre elas compactação e estabilização da emulsão, além de serem termoestáveis e detentores da capacidade de funcionar como suporte para substâncias ativas a partir do processo de reticulação na presença de cátions bivalentes (CHANDRA; RUSTGI, 1998; SIMPSON *et al.*, 2004). Suas propriedades materiais, versatilidade e biocompatibilidade, boa biodegradação e baixa toxicidade, levaram à ampla utilização do alginato para aplicações médicas, incluindo curativos, sistemas de liberação controlada de fármacos e, mais recentemente, para terapia regenerativa de queimaduras e feridas de difícil cicatrização (TONNESEN; KARLSEN, 2002).

Figura 03. Estrutura molecular do alginato.



O ácido hialurônico (**Figura 04**), um polissacarídeo linear de ocorrência natural, composto de 2.000-25.000 unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico (GlcUA) e N-acetilglicosamina (GlcNAc) unidas alternadamente por ligações glicosídicas β (1 $\rightarrow$ 3) e β [1 $\rightarrow$ 4] (GARG; HALES, 2004), apresenta propriedades higroscópica, reológica e viscoelástica, influenciando o macro e microambiente por meio de suas interações com as células e outros componentes da matriz extracelular como o colágeno e a fibrina, desempenhando um papel fundamental na angiogênese e na manutenção da integridade tecidual, facilitando a adesão e diferenciação de células durante processos inflamatórios e reparos de feridas (CHEN; ABATANGELO, 1999; SLEVIN *et al.*, 2007). Quando é incorporado a uma solução aquosa neutra ocorrem interações de hidrogênio entre os grupos carboxila e *N*-acetil e as moléculas de água, conferindo ao polímero capacidade de retenção hídrica e dureza conformacional, limitando sua flexibilidade (CHONG *et al.*, 2005). Na área dos biomateriais, o ácido hialurônico tem sido aplicado em diversos campos da medicina, como em neurocirurgia, recobrimento de ferimentos e desenvolvimento de cosméticos (PRICE *et al.*, 2007).

Figura 04. Estrutura molecular do ácido hialurônico.



Tendo em vista o exposto acerca da versatilidade dos biomateriais e sua aplicabilidade em sistemas de liberação controlada de fármacos, o presente trabalho teve como objetivo, a obtenção e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo um ativo de origem natural (piperina), as quais foram incorporadas em filmes bioadesivos para aplicação tópica no tratamento de afecções inflamatórias cutâneas, com vistas à produção de uma formulação protótipo para uso comercial.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Piperina

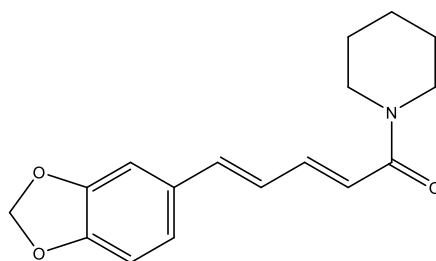
Piperaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas com cerca de 3.615 espécies distribuídas ao redor de todo o planeta. Suas espécies, distribuídas dentro de cerca de 19 gêneros, são importantes elementos da composição do sub-bosque de florestas tropicais (JARAMILLO; MANOS, 2001), sendo facilmente reconhecidos por apresentarem folhas simples, flores diminutas, aclamídeas reunidas em inflorescências do tipo espiga, ovário súpero com um óvulo e fruto do tipo drupa (YUNCKER, 1972).

O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, reunindo atualmente cerca de 2.000 espécies, 289 delas encontradas em território brasileiro, das quais 178 são endêmicas (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Estudos filogenéticos sugerem que esse gênero é monofilético, dando suporte para 3 clados principais, incluindo espécies da Ásia, do Neotrópico e do Pacífico Sul (JARAMILLO; MANOS, 2001). O principal caractere utilizado para distinguir *Piper* dos demais gêneros da família é seu hábito arbóreo-arbustivo (SOUZA; LORENZI, 2012; SCHUBERT *et al.*, 2012), sendo que a morfologia das folhas, das nervuras e das brácteas florais são os caracteres morfológicos tradicionalmente empregados para circunscrever suas espécies (SILVA *et al.*, 2015).

Economicamente as espécies de *Piper* são importantes pela exploração da pimenta como condimento nos mercados no mundo todo. Além disso, são há muito tempo utilizadas no sistema de medicina indiano (Ayurvédica), na medicina popular da América Latina e nas Índias Orientais (PARMAR *et al.*, 1997). Os constituintes químicos mais comuns são alcaloides e amidas, em especial a isobutilamida, piperidina, pirrolidina e a piperina (SENGUPTA; RAY, 1987).

A piperina (**Figura 05**) é o principal metabólito secundário isolado de *P. nigrum*, estando presente em concentrações que chegam a 90 g/Kg do fruto seco (THIEL, 2014). É caracterizada como uma substância cristalina de coloração amarela, com ponto de fusão entre 127-135 °C, massa molecular de 285,3377 g.mol⁻¹, fraca solubilidade em água (0,04 mg.mL⁻¹ a 18 °C), boa solubilidade em etanol (60 mg.mL⁻¹), log *P* = 2,25 (WU *et al.*, 2012), ρ (23 °C) = 1,39 g.mL⁻¹, e pKa (18 °C) = 12,22 [catiônico em pH baixo] (ELNAGGAR *et al.*, 2015).

Figura 05. Estrutura molecular da piperina.



A molécula apresenta várias propriedades farmacológicas, com destaque para estudos que atestam sua efetividade antipirética, analgésica e, sobretudo, anti-inflamatória (GUPTA *et al.*, 2000; BUKHARI *et al.*, 2013; YING *et al.*, 2013; TASLEEM *et al.*, 2014). Também há referências quanto ao seu potencial antidepressivo (LEE *et al.*, 2005; LI *et al.*, 2007), imunomodulador, antitumoral e antimetastásico (DARSHAN; DORESWANY, 2004; SUNILA; KUTTAN, 2004; PRADEEP; KUTTAN, 2000), antimicrobiano (YANG *et al.*, 2002), hepatoprotetor e antiulceroso (DESAI *et al.*, 2008; BAI; XU, 2000) e antioxidante (SELVENDIRAM *et al.*, 2004; SELVENDIRAM *et al.*, 2005). Na literatura também é reportado o aumento da biodisponibilidade de diversos fármacos co-administrados com a piperina, *e.g.* propranolol, esparteína, fenitoína, nimesulida, nevirapina, pirazinamida, teofilina, etc. (BANO *et al.*, 1991; OLIVEIRA *et al.*, 2014; MEGHWAL *et al.*, 2021), e também de outros bioativos, como por exemplo, a curcumina (BASPINAR *et al.*, 2018). Este efeito acarreta em maior absorção do fármaco, elevando sua concentração plasmática devido à interferência no metabolismo de primeira passagem e inibição da glicoproteína P (Gp-P) e também da atividade constitutiva do citocromo P450 [CYP 450] (BADMAEV *et al.*, 2000; BHARDWAJ *et al.*, 2002, OLIVEIRA *et al.*, 2014).

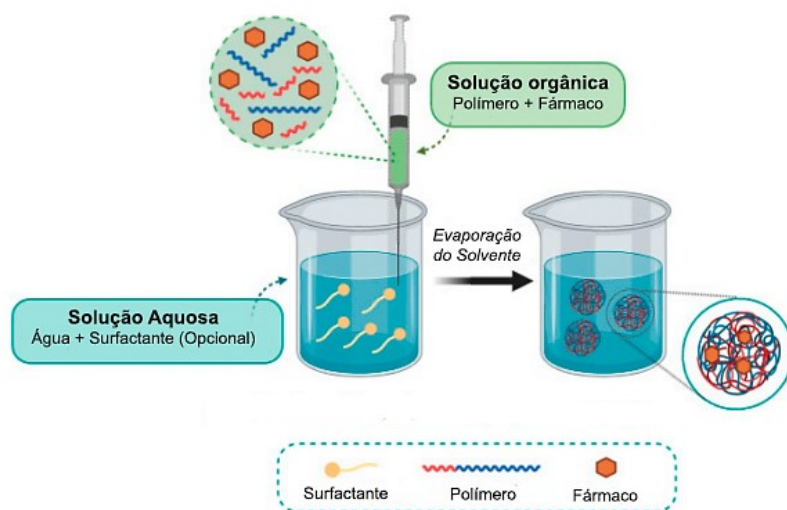
2.2. Nanoprecipitação

A nanoprecipitação (**Figura 06**), ou deslocamento de solvente, é um método de preparação de nanopartículas poliméricas desenvolvido por FESSI *et al.* (1989), sendo bastante atrativo do ponto de vista comercial por sua simplicidade e baixo custo. Seu princípio é a formação de partículas a partir da deposição interfacial do polímero após o deslocamento do solvente da fase orgânica (etanol, metanol, acetona, acetato de etila, etc.) para fase aquosa de uma solução lipofílica mantida sob agitação constante, desde que o par solvente/anti-solvente seja total ou parcialmente miscível (BECK-

BROICHSITTER *et al.*, 2010; RAO; GECKELER, 2011). Após a mistura das fases, há a diminuição da tensão superficial entre elas, aumentando a área superficial, levando então à formação de nanoesferas instantaneamente, em um processo denominado de Efeito Marangoni (MORA-HUERTAS *et al.*, 2011). Brevemente, partículas com tamanho de micro a nanométrico são formadas devido à diferença de tensão superficial existente entre o solvente orgânico (baixa tensão) e o anti-solvente (a água, com alta tensão). Esse gradiente gera uma turbulência entre as fases, interferindo no mecanismo de equilíbrio do sistema, resultando num decréscimo da energia livre de Gibbs. A ocorrência de perturbações na interface do sistema resulta em padrões de circulação e movimentos que geram uma convecção, promovendo o aumento da transferência de massa entre as duas fases. A mistura entre as fases orgânica e aquosa conduz à quebra das gotas da primeira em gotas cada vez menores, culminando com a formação de gotas com tamanho nanométrico. Assim, o fluxo do solvente a partir de regiões de baixa tensão superficial leva à agregação do polímero na superfície orgânica, levando à formação das nanopartículas (FESSI *et al.*, 1989; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

As partículas podem ser obtidas através de diferentes formas de adição da fase orgânica na fase aquosa do sistema, com ou sem a presença de um agente tensoativo nessa última: *i)* adição total; *ii)* em alíquotas; *iii)* com taxa controlada; *iv)* gota-a-gota (NAGAVARMA *et al.*, 2012; ALI; LAMPRECHT, 2013). Após finalizada a adição do volume pré-determinado de fase orgânica, é realizada a remoção do solvente por técnicas de diálise ou evaporação (LEE; FEIJEN, 2012).

Figura 06. Ilustração esquemática do método de nanoprecipitação.



Fonte: ZIELINSKA *et al.* (2020).

Dentre os parâmetros que podem influenciar nas características físico-químicas e na morfologia e tamanho das nanopartículas obtidas através da técnica, pode-se citar a composição molecular, massa molar e concentração dos polímeros (BILATI *et al.*, 2005; LEGRAND *et al.*, 2007; CHOURASIYA *et al.*, 2016), formas de adição da fase orgânica (MORA-HUERTAS *et al.*, 2011), natureza e quantidade dos solventes utilizados (MOLPECERES *et al.*, 1996; PELTONEN *et al.*, 2004), temperatura da fase aquosa (GOVENDER *et al.*, 1999), velocidade de agitação do meio e solubilidade do ativo na fase orgânica (SOUTO *et al.*, 2012).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-OKEIL, A.; FAHMY, H.M.; EL-BISI, M.K.; AHMED-FARID; O.A. Hyaluronic acid/Na-alginate films as topical bioactive wound dressings. **European Polymer Journal**, v. 109, p. 101-109, 2018.
- AKHAGARI, A.; FARAHMAND, F.; GAREKANI, H.A.; SADEGHI, F.; VANDAMME, T.F. Permeability and swelling studies on free films containing insulin in combination with different polymethacrylates aimed for colonic drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Science**. v. 28, p. 307-314, 2006.
- AL-HASSAN, A.A.; NORZIAH, M.H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocol.* v.26, n.1, p. 108-117, 2012.
- ALI, M.E.; LAMPRECHT, A. Polyethylene glycol as an alternative polymer solvent for nanoparticle preparation. **Int J Pharm.** v. 456, p. 135-142, 2013.
- ANTI, L.M.A.; GIORGI, R.D.N.; CHAHADE, W.H. Anti-inflamatórios hormonais: glicocorticoides. **Einstein**. v. 6, n. 1, p. S159-S65, 2008.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th. ed. In: LATIMER-JR, George W. (Editor), Rockville, 2016.
- ATAL, N.; BEDI, K.L. Bioenhancers: Revolutionary concept to Market. **J Ayurveda Integr Med**. v.1, n.2, p. 96-9, 2010.
- AVADI, M.R.; SADEGHI, A.M.M.; MOHAMMADPOUR, N.; ABEDIN, S. Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. v.6, n.1, p. 58-63, 2010.

BADMAEV, V.; MAJEED, M.; PRAKASH, L. Piperine derived from black pepper increases the plasma levels of coenzyme Q10 following oral supplementation. **J Nutr Biochem.** v.11, n. 2, p. 109-113, 2000.

BAE, G. S.; KIM, M. S.; JEONG, J.; LEE, H. Y.; et al. Piperine ameliorates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis by inhibiting the activation of mitogen activated protein kinases. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 410, n.3, p. 382-388, 2011.

BAI, Y.F.; XU, H. Protective action of piperine against experimental gastric ulcer. **Acta Pharmacol Sin.** v. 21, n.4, p.357-359, 2000.

BANG, J.S.; OH, D.H.; CHOI, H.M.; SUR, B.J.; et al. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1 β -stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models. **Arthritis Res Ther.** v. 11, n. 2, p. R49, 2009.

BANO, G.; RAINA, R.K.; ZUTSHI, U.; BEDI, K.L.; JOHRI, R.K.; SHARMA, S.C. Effect of piperine on bioavailability and pharmacokinetics of propranolol and theophylline in healthy volunteers. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** v. 41, n. 6, p. 615-617, 1991.

BARICEVIC, D.; SOSA, S.; DELLA LOGGIA, R.; TUBARO, A.; SIMONOVSKA, B.; KRASNA, A.; ZUPANCIC, A. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. **J Ethnopharmacol.** v. 75, n. 2-3, p. 125-132, 2001.

BARNES, P.J.; KARIN, M. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammation. **N. Engl. J. Med.** v. 336, p. 1066-1071, 1997.

BASPINAR, Y.; ÜSTÜNDAŞ, M.; BAYRAKTAR, O.; SEZGIN, C. Curcumin and piperine loaded zein-chitosan nanoparticles: Development and *in-vitro* characterisation. **Saudi Pharmaceutical Journal.** V. 26, n. 3, p. 323-334, 2018.

BECK-BROICHSITTER, M.; RYTTING, E.; LEBHARDT, T.; WANG, X.; KISSEL, T. Preparation of nanoparticles by solvent displacement for drug delivery: A shift in the “ouzo region” upon drug loading. **European Journal of Pharmaceutical Sciences.** v 41, n. 2, p. 244-253, 2010.

BERTUZZI, M.A.; VIDAURRE, E.F.C.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J.C. Water vapor permeability of edible starch-based films. **Journal of Food Engineering.** v.80, p. 972-978, 2007.

BHAGWAT, S.S.; MANNING, A.M.; HOEKSTRA, M.F.; LEWIS, A. Gene-regulating protein kinases as important anti-inflammatory targets. **Drug Discov Today.** V.4 n. 10, p. 472-479, 1999.

BHARDWAJ, R.K.; GLAESER, H.; BECQUEMONT, L.; KLOTZ, U.; GUPTA, S.K.; FROMM, M.F. Piperine, a major constituent of black pepper, inhibits human P-glycoprotein and CYP3A4. **J Pharmacol Exp Ther.** V. 302, n. 2, p. 645-650, 2002.

BILATI, U.; ALLEMANN, E.; DOELKER, E. Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, .v. 24, p. 67-75, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº166, de 24 de julho de 2017. Validação de métodos analíticos.

BUCKLE, D.R.; HEDGECOCK, C.J.R. Drug targets in inflammation and immunomodulation. **Drug Discov Today**.v 2, p. 325-332, 1997.

BUKHARI, F.A.; RIZWAN, M.; LIAQUAT, K.; ASHRAF, R.; ALI, S.M.; AZEEM, S.R.; ALI, M.A. An Investigation of Customers to Explain the Purchase Intentions of Expensive Mobile Phone. **Journal of Basic and Applied Scientific Research.** v3, n. 11, p. 87-96, 2013.

BUSSAB, W.O; MORETTIN, P.A. **Estatística básica**. 6a. ed. São Paulo: Saraiva, 2010.

CALVO, P.; REMUÑÁN-LÓPEZ, C.; VILA-JATO, J.L.; ALONSO, M.J.. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers **J. Appl. Polym. Sci.** v.63, n. 1, p. 125-132, 1997.

CARVALHO, F.C.; BRUSCHI, M.L.; EVANGELISTA, R.C.; GREMIÃO, M.P.D. Mucoadhesive drug delivery systems. **Braz J Pharma Sci.** v.46, p. 1-17, 2010.

CASTRO, K.C.; COSTA, J.M.; CAMPOS, M.G.N. Drug-loaded polymeric nanoparticles: a review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials.** v.71, n. 1, p. 1-13, 2020.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Progress in Polymer Science.** v.23, p. 1273-1335, 1998.

CHEN, W.Y.; ABATANGELO, G. Functions of hyaluronan in wound repair. **Wound Repair Regen.** v.7, n. 2, p. 79-89, 1999.

CHONG, B.F.; BLANK, L.M.; MCLAUGHLIN, R.; NIELSEN, L.K. Microbial Hyaluronic acid production, **Applied Microbiology and Biotechnology.** v.66n. 4, p. 341-351, 2005.

CHOURASIYA, V.; BOHREY, S.; PANDEY, A. Formulation, optimization, characterization and in-vitro drug release kinetics of atenolol loaded PLGA nanoparticles using 3^3 factorial design for oral delivery. **Materials Discovery**, v.5, p. 1-13, 2016.

COSTA, P.; SOUSA-LOBO, J.M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

COSTA, N.N.; LOPES, L.F.; FERREIRA, D.F.; et al. Polymeric films containing pomegranate peel extract based on PVA/starch/PAA blends for use as wound dressing: *In vitro* analysis and physicochemical evaluation. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**. v.109, p. 110643, 2020.

DARSHAN, S.; DORESWANY, R. Patented anti-inflammatory plant drug development from traditional medicine. **Phytotherapy Research**. v.18, n. 5, p.343-357, 2004.

DESAI, S.K.; GAWALI, V.S.; NAIK, A.B.; D'SOUZA, L.L. Potentiating effect of piperine on hepatoprotective activity of *Boerhaavia diffusa* to combat oxidative stress. **International Journal of Pharmacology**. v.4, n.5, p.393-397, 2008.

DICK, I.P.; SCOTT, R.C. Pig ear skin as an in-vitro model for human skin permeability. **J Pharm Pharmacol**. v.44, p. 640-645, 1992.

DUTRA, J.A.P.; CARVALHO, S.G.; ZAMPIROLI, A.C.D.; et al. Papain wound dressings obtained from poly(vinyl alcohol)/calcium alginate blends as new pharmaceutical dosage form: Preparation and preliminary evaluation. **Eur J Pharm Biopharm**. v.113, p. 11-23, 2017.

EL KAMEL, A.H.; SOKAR, M.S.; GAMAL, S.S.A; NAGGAR, V.F. Preparation and evaluation of ketoprofen floating oral delivery system. **Int J Pharm**. v220, p. 13-21, 2001.

EL MAGHRABY, G.M.; ELZAYAT, E.M.; ALANAZI, F.K. Investigation of *in situ* gelling alginate formulations as a sustained release vehicle for co-precipitates of dextromethorphan and Eudragit S 100. **Acta Pharma**. v64, p. 29-44, 2014.

EL GHAZALY, M.A.; FADEL, N.; RASHED, E.; EL-BATAL, A.; KENAWY, S.A. Anti-inflammatory effect of selenium nanoparticles on the inflammation induced in irradiated rats. **Can J Physiol Pharmacol**. v.95, n. 2, p. 101-110, 2017.

ELKADY, A.A.; TAWFIK, S.S. Anti-inflammatory role of piperine against rat lung tissue damage induced by gamma-rays **Int J Radiat Res**. v 16, n. 1, p.75-84, 2018.

ELNAGGAR, Y.S.R.; ETMAN, S.M.; ABDELMONSIF, D.A. Intranasal piperine-loaded chitosan nanoparticles as brain-targeted therapy in Alzheimer's disease: optimization, biological efficacy, and potential toxicity. **J Pharm Sci.** v.104, n.10, p. 3544-3556, 2015.

EOUANI, C.; PICCERELLE, P.; PRINDERRE, P.; BOURRET, E.; JOACHIM, J. *In-vitro* comparative study of buccal mucoadhesive performance of different polymeric films **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** v52, n.1, p.45-55, 2001.

ESCOBAR-CHÁVEZ, J.J.; MERINO-SANJUÁN, V.; LÓPEZ-CERVANTES, M.; et al. The tape-stripping technique as a method for drug quantification in skin. **J Pharm Sci.** v11, n. 1, p. 104-130, 2008.

EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd ed. UK, 2014.

FDA. Food and Drug Administration. **Validation of Chromatographic Methods.** Washington: Center for Drug and Evaluation and Research, 2004.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J.P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics.** v55, n.1, p. R1-R4, 1989.

GAMAL M.; MAGHRABY, E.; AHMED, A.A.; OSMAN, M.A. Penetration enhancers in proniosomes as a new strategy for enhanced transdermal drug delivery. **Saudi Pharm J.** v.23 n.1, p. 67–74, 2015.

GARALA, K.; JOSHI, P.; SHAH, M.; RAMKISHAN, A. Formulation and evaluation of periodontal in situ gel. **International Journal of Pharmaceutical Investigation.** v.3, n. 1, p. 29-41, 2013.

GARG, H.G.; HALES, C.A. **Chemistry and biology of Hyaluronan.** Boston: Elsevier Science, 2004.

GAUMET M., VARGAS A., GURNY R., DELIE F. Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** v.69, n. 1, p. 1-9, 2008.

GOVENDER, T.; STOLNIK, S.; GARNETT, M.C.; ILLUM, L.; DAVIS, S.S. PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water soluble drug. **J Control Release.** v.57, n. 2, p. 171-185, 1999.

GUPTA, S.K.; BANSAL, P.; BHARDWAJ, R.K.; VELPANDIAN, T. Comparative anti-nociceptive, anti-inflammatory and toxicity profile of nimesulide vs nimesulide and piperine combination. **Pharmacol Res.** v. 41, n. 6, p. 657-662, 2000.

GUTTMAN-YASSKY, E.; Michelle A LOWES, M.A.; FUENTES-DUCULAN, J.; WHYNOT, J.; et al. Major differences in inflammatory dendritic cells and their products distinguish atopic dermatitis from psoriasis. **J Allergy Clin Immunol.** v.119, n. 5, p. 1210-1217, 2007.

ICH, 2005. **Validation of analytical methods:** definitions and methodology. London: European Medicines Agency, 2005.

INMETRO, 2020. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ CGCRE 008, Revisão 08, Coordenação Geral de Acreditação, 2020.

JARAMILLO, M.A.; MANOS, P.S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany.** v.88, n. 4, p. 706-716, 2001.

JOHRI, R.K.; THUSU, N.; KHAJURIA, A.; ZUTSHI, U. Piperine-mediated changes in the permeability of rat intestinal epithelial cells. The status of gamma-glutamyl transpeptidase activity, uptake of amino acids and lipid peroxidation **Biochem Pharmacol.** v.43, n. 7, p. p. 1401-1407, 1992.

KABANOV, A.V.; BATRAKOVA, E.V.; ALAKHOV, V.Y. Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. **J Control Release.** v.82, n. 2-3, p. 189-212, 2002.

KATIYAR, D.; HEMANTARANJAN, A.; SINGH, B. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. **Indian Journal of Plant Physiology.** v.20, n. 1, p. 1-9, 2015.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C.D. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. **Food Technology,** v.51, p. 61-73, 1997.

KRUEGER, J.G.; BAWCOCK, A. Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. **Ann Rheum.** v.64, n. 2, p. 30-36, 2005.

KUMAR, D.H.L.; SARKAR, P. Encapsulation of bioactive compounds using nanoemulsions. **Environmental Chemistry Letters.** v.16, p. 59-70, 2018.

LABOURET, A.; THIOUNE, O.; FESSI, H.; DEVISSAGUET, J.P.; PUISIEUX, F. Application of an Original process for Obtaining Colloidal Dispersions of Some Coating Polymers. Preparation, Characterization, Industrial Scale-Up. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** v.21, n. 2, p. 229-241, 1995.

- LEE, J.S.; FEIJEN, J. Polymersomes for drug delivery: design, formation and characterization **J Control Release**. v.161, n. 2, p. 473-483, 2012.
- LEE, S.A.; HONG, S.S.; HAN, X.H.; HWANG, J.S.; et al. Piperine from the fruits of *Piper longum* with inhibitory effect on monoamine oxidase and antidepressant-like activity. **Chem Pharm Bull**. v.53, n. 7, p. 832-835, 2005.
- LEGRAND, P.; LESIEUR, S.; BOCHOT, A.; GREF, R.; RAATJES, W.; BARRATT, G.; VAUTHIER, C. Influence of polymer behavior in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. **Int J Pharm**. v.344, n.1-2, p. 33-43, 2007.
- LEUNG, D.Y.M.; BOGUNIEWICZ, M.; HOWELL, M.D.; NOMURA, I.; HAMID, O.A. New insights into atopic dermatitis. **J Clin Invest**. v.113, n. 5, p. 651-657, 2004.
- LI, S.; WANG, C.; WANG, M.; LI, W.; MATSUMOTO, K.; TANG, Y. Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms. **Life Sci**. v.80, n. 15, p. 1373-1381, 2007.
- LI, Y.; LI, K.; HU, Y.; XU, B.; ZHAO, J. Piperine mediates LPS induced inflammatory and catabolic effects in rat intervertebral disc. **Int J Clin Exp Pathol**. v8, n. 6, p. 6203-6213, 2015.
- LIU, N.; CHEN, X.G.; PARK, H.J.; LIU, C.G.; LIU, C.S.; MENG, X.H.; YU, L.J. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. **Carbohydrate polymers**. v.64, n.1, p. 60-65, 2006.
- MANOHARAN, S.; BALAKRISHNAN, S.; MENON, V.P.; ALIAS, L.M.; REENA, A.R. Chemopreventive and efficacy of curcumin and piperine during 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. **Singapore Medical Journal**. v.50, n. 2, p. 139-146, 2009.
- MAS, J.D.; ZERMIANI, T.; THIESEN, L.C.; et al. Nanoemulsion as a carrier to improve the topical anti-inflammatory activity of stem bark extract of *Rapanea ferruginea*. **Int J Nanomedicine**. v.11, p 4495-4507, 2016.
- MATHIOWITZ, E.; CHICKERING, D.E.; LEHR, C.M. Bioadhesive drug delivery systems: fundamentals, novel approaches, and development. New York, NY: CRC Press, 1999.
- MEGHWAL, M.; DEVU, S.; SINGH, H.; GOSWAMI, T.K. A centum of valuable plant bioactives. Chapter 26 - Piperine and curcumin. Academic Press, p. 589-612, 2021.

MENEGUIN, A.B.; CURY, B.S.F.; EVANGELISTA, R.C. Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. **Carbohydrate Polymers**. v.99, p. 140-149, 2014.

MENESES, J.; SILVA, J.C.; FERNANDES, S.R.; et al. A multimodal stimulation cell culture bioreactor for tissue engineering. **Polymers**. v.12, p. 240, 2020.

MILADI, K.; SFAR, S.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Nanoprecipitation process: From particle preparation to *in vivo* applications. In: VAUTHIER C.; PONCHEL, G. (eds). *Polymer Nanoparticles for Nanomedicines*. Springer, Cham, 2016.

MITTAL, R.; GUPTA, R.L. *In vitro* antioxidant activity of piperine. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**. v.22, n. 5, p. 271-274, 2000.

MOLPECERES, J.; GUZMAN, M.; ABERTURAS, M.R.; CHACON, M.; BERGES, L. Application of central composite designs to the preparation of polycaprolactone nanoparticles by solvent displacement. **J Pharm Sci**. v.85, n. 2, p. 206-213, 1996.

MOORTHY, C.; KRISHNAN, K.; MANAVALAN, R.; KATHIRESAN, K. Preparation and characterization of curcumin-piperine dual drug loaded nanoparticles. **Asian Pac J Trop Biomed**. v.2, n. 11, p. 841-848, 2012.

MORA-HUERTAS, C.E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification–diffusion methods: Critical comparison. **Advances in Colloid and Interface Science**. v.163, n. 2, p. 90-122, 2011.

MORT, J.R.; APARASU, R.R.; BAER, R.K. Interaction between selective serotonin reuptake inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: review of the literature. **Pharmacotherapy**. v.26, n. 9, p. 1307-1313, 2006.

MOTTA, M.H.; SCHNEIDER, A.C.; CODEVILLA, C.F.; MENEZES, C.R.; SILVA, C.B. 2018. Analytical method by liquid chromatography to assay piperine associated in Nanoemulsions. **Drug Anal Res**. v.2, n. 1, p. 1-7, 2018.

NAGAVARMA, B.V.N.; YADAV, H.; AYAZ, A.; VASUDHA, L.S. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles- A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**. v.5, n.3, p. 16-23, 2012.

NAVICKIENE, H.M.D.; ALÉCIO, A.C.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M.C.M.; CAVALHEIRO, A.J.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**. v.55, p. 621-626, 2000.

- NICKOLOFF, B.J.; NESTLE, F.O. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. **J Clin Invest.** v.113, n. 12, p. 1664-1675, 2004.
- OLIVEIRA, M.L.B.; FRANÇA, T.A.R.; CAVALCANTE, F.S.; LIMA, R.A. O gênero *Piper* no brasil: o estado da arte da pesquisa. **Biodiversidade.** v.19, n.3, p. 198-210, 2020.
- OLIVEIRA, P.A.; ALMEIDA, T.B.; OLIVEIRA, R.G.; GONÇALVES, G.M. et al. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of piperic acid: Involvement of the cholinergic and vanilloid systems. **Eur J Pharmacol.** v.834, p. 54-64, 2018.
- OLIVEIRA, R.G.; ALENCAR-FILHO, E.B.; VASCONCELLOS, M.L.A.A. A influência da piperina na biodisponibilidade de fármacos: uma abordagem molecular. **Química Nova** v.37, n. 1, p. 69-73, 2014.
- OSORIO, R.M.; HEFTI, A.; VERTUCCI, F.J.; SHAWLEY, A.L. Cytotoxicity of endodontic materials. **J Endod.** v.24, n.2, p. 91-96, 1998.
- PADULA, C.; COLOMBO, G.; NICOLI, S.; CATELLANI, P.L.; MASSIMO, G.; SANTI, P. Bioadhesive film for the transdermal delivery of lidocaine: in vitro and in vivo behavior. **J Control Release.** v.88, n.2, p. 277-285, 2003.
- PARMAR, V.S.; JAIN, S.C.; BISHT, K.S.; JAIN, R. Phytochemistry of genus *Piper*. **Phytochemistry** v.46, n. 4, p. 597-673, 1997.
- PATIL, R.; SANADA, K.; JIANG, X.; HARIMA, Y.; MASAOKA, K.; YAMASAKI, S.; YANO, J. Microspheres of Conducting Poly(N-methylaniline). **Polymer Journal.** v.36, p. 549-555, 2004.
- PECORA, R. Dynamic Light Scattering Measurement of Nanometer Particles in Liquids. **Journal of Nanoparticle Research.** v.2, p. 123-131, 2000.
- PELTONEN, L.; AITTA, J.; HYVÖNEN, S.; KARJALAINEN, M.; HIRVONEN, J. Improved entrapment efficiency of hydrophilic drug substance during nanoprecipitation of poly(lactide) nanoparticles. **AAPS Pharm Sci Tech.** v.5, n. 1, p. E16, 2004.
- PEPPAS, N.A. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release albumin microcapsules of nitrofurantoin from polymers. **Pharm. Acta Helv.** v. 60, p. 110–111, 1985.
- PHARMACEUTICAL BULLETINS. Bulletin 23 - Bioadhesion, Lubrizol, 2008.

PRAÇA, F.S.G.; MEDINA, W.SG.; ELOY, J.E. Evaluation of critical parameters for *in vitro* skin permeation and penetration studies using animal skin models. **Eur. J. Pharmac. Sci.** v.11, p. 121-132, 2018.

PRADEEP, C.R.; KUTTAN, G. Piperine is a potent inhibitor of nuclear factor- κ B (NF- κ B), c-FOS, CREB, ATF-2 and proinflammatory cytokine gene expression in B16F-10 melanoma cells **Int. Immunopharmacology**. v.4, n. 14, p. 1795-1803, 2004.

PRAKASH, K.; RAJU, P.N.; KUMARI, K.S.; NARASU, M.L. Solubility and dissolution rate determination of different antiretroviral drugs in different pH media using UV visible spectrophotometer. **E-J. Chem.** v.5, n.S2, p. 1159-1164, 2008.

PREZOTTI, F.G.; MENEGUIN, A.B.; EVANGELISTA, R.C.; CURY, B.S.F. Preparation and characterization of free films of high amylose/pectin mixtures cross-linked with sodium trimetaphosphate. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v.38, p. 1-6, 2012.

PRICE, R.D.; BERRY, M.G.; NAVSARIA, H.A. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**. v.60, n. 10, p. 1110-1119, 2007.

PRIMO, F. L.; SIQUEIRA-MOURA, M. P.; SIMIONI, A. R.; PETI, A. P. F.; TEDESCO, A.C. Preparation, characterization and cytotoxicity assays of choroaluminum phthalocyanine photosensitizer drug loaded in PLGA-nanocapsules. **Drugs of the Future**. v.32, p. 73-74, 2007.

RANG, H.P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 8a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 760 p.

RAO, J.P.; GECKELER, K.E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*. v.36, n.7, p. 887-913, 2011.

RATHER, R.A.; BHAGAT, M. Cancer Chemoprevention and Piperine: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. **Front Cell Dev Biol**. v.6, 10, 2018. Doi: <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00010>.

REN, T.; HU, M.; CHENG, Y.; et al. Piperine-loaded nanoparticles with enhanced dissolution and oral bioavailability for epilepsy control. **Eur J Pharm Sci**. v.137, 104988, 2019.

RIBEIRO, F.A.L.; FERREIRA, M.M.C.; MORANO, S.C.; SILVA, L.R.; SCHNEIDER, R.P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química nova**. v.31, n.1, p. 164-171, 2008.

RIBEIRO, T.S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; PREVIATO, J.O.; MENDONÇA-PREVIATO L.; HEISE, N.; LIMA, M.E.F. Toxic effects of natural piperine and its derivatives on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. **Bioorg Med Chem Lett** v.14, p. 3555-3558, 2004.

ROGERO, S.O.; LUGÃO, A.B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Mat Res.** v.6, n.3, p. 317-320, 2003.

RUSSEL-JONES, R.; POWELL, A.M.; ACLAND, K.; CALONJE, E.; O'DOHERTY, M.; HEALY, C. The chances of a patient with melanoma developing in transit disease are doubled by undergoing sentinel lymph node biopsy (SLNB). **European Journal of Surgery Oncology.** v.31, p. 210-211, 2005.

SABINA, E.P.; NAGAR, S.; RASOOL, M. A Role of piperine on monosodium urate crystal-induced inflammation – An experimental model of gouty arthritis. **Inflammation.** v.34, n.3, p. 184-192, 2011.

SAMYKUTTY, A.; SHETTY, A.V.; DAKSHINAMOORTHY, G.; BARTIK, M.M.; et al. Piperine, a Bioactive Component of Pepper Spice Exerts Therapeutic Effects on Androgen Dependent and Androgen Independent Prostate Cancer Cells. **PLoS One.** v.8, n. 6, e65889, 2013.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quím. Nova** v.26, n.5, p. 726-737, 2003.

SCHUBERT, H.K.; Michael S. TAYLOR, M.S.; James F. SMITH, J.F.; BORNSTEIN, A.J. A Systematic revision of the genus *Manekia* (Piperaceae). **Systematic Botany.** v.37, n. 3, p. 587-598, 2012

SELVENDIRAN, K.; BANU, S. M.; SAKTHISEKARAN, D. Protective effect of piperine on benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. **Clínica Chimica Acta.** v.350, p. 73-78, 2004.

SELVENDIRAN, K.; THIRUNAVUKKARASU, C.; SINGH, J. P.; PADMAVATHI, R.; SAKTHISEKARAN, D. Chemopreventive effect of piperine on mitochondrial TCA cycles and phase-I and GSH-metabolizing enzymes in benzo(a)pyrene induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. **Molecular and Cellular Biochemistry.** v.271, n.1-2, p. 101-106, 2005.

SENGUPTA, S.; RAY, A.B. 1987. The chemistry of *Piper* species: a review. **Fitoterapia** v.58, p. 147-166.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v.26, n.5, p. 726-737, 2003.

SILVA, M. C.; GUIMARÃES, E. F.; PEREIRA, L. A.; SARNAGLIA-JUNIOR, V. B. Two new species of *Piper* section *Ottonia* (Piperaceae) from southeastern Brazil. **Phytotaxa**. v. 212, n.4, p. 293-299, 2015.

SILVA, S.; COCENZA, D.S.; GRILLO, R.; et al. Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: preparation, characterization and soil sorption studies. **Journal of hazardous materials**, v.190, n. 1-3), p. 366-374, 2011.

SIMPSON, N.E.; STABLER, C.L.; SIMPSON, C.P.; SAMBANIS, A.; CONSTANTINIDIS, I. The role of the CaCl₂-guluronic acid interaction on alginate encapsulated betaTC3 cells. **Biomaterials**. v.25, n.13, p. 2603-2610, 2004.

SIONKOWSKA, A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. **Progress in Polymer Science**.v. 36, n.9, p. 1254-1276, 2011.

SKJK-BRÆK, G.; GRASDALEN, H.; LARSEN, B. Monomer sequence and acetylation pattern in some bacterial alginates. **Carbohydrate Research**. v.154, n.1, 239-250, 1986.

SLEVIN, M.; KRUPINSKI, J.; GAFFNEY, J.; MATOU, S.; WEST, D.; DELISSER, H.; SAVANI, R.C.; KUMAR, S. Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular diseasep. uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways. **Matrix Biol**. v.26, n.1, p. 58-68, 2007.

SOUTO, E.B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M.H. Preparation of Polymeric Nanoparticles by Polymerization of Monomers - Part I. **Polímeros**. v.22, n.1, p.96-100, 2011.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3a ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2012. 768 p.

SUN, X.; UYAMA, H. A poly(vinyl alcohol)/sodium alginate blend monolith with nanoscale porous structure. **Nanosc Res Letters**. v.8, p. 411, 2013.

SUNILA, E.S.; KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine. **J Ethnopharmacol**. v.90, n. 2-3, p. 339-346, 2004.

TASLEEM, F.; AZHAR, I.; ALI, S.N.; PERVEEN, S.; MAHMOOD, Z.A. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. **Asian Pac J Trop Med.** S1, S461-468, 2014.

THIEL, A.; BUSKENS, C.; WOEHRLE, T.; ETHEVE, S.; SCHOENMAKERS, A.; FEHR, M.; BEILSTEIN, P. Black pepper constituent piperine: genotoxicity studies in vitro and *in vivo*. **Food Chem Toxicol.** v.66, p. 350-357, 2014.

TONNESEN, H.H.; KARLSEN, J. Alginate in drug delivery systems. **Drug Dev Ind Pharm.** v.28, n.6, p. 621-630, 2002.

TORCHILIN, V.P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. **J Control Release.** v.73, n.2-3, p. 137-172, 2001.

UMAR, S.; SARWAR, A.H.M.G.; UMAR, K.; AHMAD, N.; et al. Piperine ameliorates oxidative stress, inflammation and histological outcome in collagen induced arthritis. **Cell Immunol.** v.284, n. 1-2, p. 51-59, 2013.

USP, 2011. The United States Pharmacopeia, 34th ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2011.

VIJAYAKUMAR, R.S.; SURYA, D.; NALINI, N. Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. **Redox Rep.** v.9, n.2, p. 105-110, 2004.

VISSCHER, M.O.; HOATH, S.B.; CONROY, E.; WICKETT, R.R. Effect of semipermeable membranes on skin barrier repair following tape stripping. **Arch Dermatol Res.** v.293, p. 491-499, 2001.

VOIGT, R. Pharmazeutische technologie: für Studium und Beruf. 9th ed. Stuttgart: Apotheker, 2000.

WANG, X.; VENKATRAMAN, S.; BOEY, F.; LOO, J.; TAN, L.P. Controlled release of *Sirolimus* from a multilayered PLGA stent matrix. **Biomaterials.** v.27, p. 5588-5595, 2006.

WEIDINGER, S.; BECK, L.A.; BIEBER, T.; KABASHIMA, K.; IRVINE, A.D. Atopic dermatitis. **Nature Reviews Disease Primers.** v.4, n.1, 2018.

WILLIAMS, I.R.; KUPPER, T.S. Immunity at the surface: homeostatic mechanisms of the skin immune system. **Life Sci.** v.58, p. 1485-1507, 1996.

WONGPA, S.; HIMAKOUN, L.; SOONTORNCHAI, S.; TEMCHAROEN, P. 2007. Antimutagenic effects of piperine on cyclophosphamide induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells. **Asian Pacif J Cancer Prev.** v.8, p. 623-627, 2007.

YANG, Y.C.; LEE, S.G.; LEE, H.K.; KIM, M.K.; LEE, S.H.; LEE, H.S. 2002. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. **J Agric Food Chem.** v.50, p. 3765-3767, 2002.

YAO N., WANG Z.L. Handbook of Microscopy for Nanotechnology. Springer, USA, 2005. 731 p.

YING, X.; CHEN, X.; CHENG, S.; SHEN, Y.; PENG, L.; XU, H.Z. Piperine inhibits IL- β induced expression of inflammatory mediators in human osteoarthritis chondrocyte. **Int Immunopharmacol.** v.17, n. 2, p. 293-299, 2013.

YUNCKER, T.G. The Piperaceae of Brazil. **Hoehnea** v. 2, p. 19-366, 1972.

ZACTITI, E.M.; KIECKBUSCH, T.G. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. **Journal of Food Engineering** v.77, n.3, p. 462-467, 2006.

ZHAI, W.J.; ZHANG, Z.B.; XU, N.N.; GUO, Y.F.; QIU, C.; Li, C.Y.; DENG, G.Z.; GUO, M.Y. Piperine Plays an anti-inflammatory role in *Staphylococcus aureus* endometritis by inhibiting activation of NF- κ B and MAPK pathways in mice. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2016, 8597208, 2016.

ZIELIŃSKA, A.; CARREIRÓ, F.; OLIVEIRA, A.M.; NEVES, A., et al. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. **Molecules.** v.25, n.16, 3731, 2020.