

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Desenvolvimento Tecnológico de Hidrogel Termossensível Estéril Contendo  
Suspensão de Nanocápsulas de Curcumina para Tratamento de Inflamações  
Oftalmológicas

AYANA BRÊTAS DA SILVA

Porto Alegre, 2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Desenvolvimento Tecnológico de Hidrogel Termossensível Estéril Contendo  
Suspensão de Nanocápsulas de Curcumina para Tratamento de Inflamações  
Oftalmológicas

Dissertação apresentada por **Ayana Brêtas  
da Silva** para obtenção do GRAU DE  
MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientador(a): Profa. Dra. Karina Paese

Porto Alegre, 2022

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 31 de outubro de 2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Flávia Nathiely Silveira Fachel  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Helder Ferreira Teixeira  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Tanira Alessandra Silveira Aguirre  
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Brêtas da Silva, Ayana  
Desenvolvimento Tecnológico de Hidrogel  
Termossensível Estéril Contendo Suspensão de  
Nanocápsulas de Curcumina para Tratamento de  
Inflamações Oftalmológicas / Ayana Brêtas da Silva. --  
2022.  
85 f.  
Orientadora: Karina Paese.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,  
BR-RS, 2022.

1. Nanocápsulas poliméricas. 2. Curcumina. 3.  
Hidrogel termossensível. 4. Esterilização. I. Paese,  
Karina, orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Anilce de Araújo Brêtas e Alessandro Costa da Silva, por seus incentivos e apoio pessoal e profissional.

Ao meu marido, Pedro Emanuel da Silveira Marques, por seu constante apoio e incentivo na minha vida pessoal, profissional e acadêmica.

Às minhas filhas Ana Sophia da Silva Marques e Agatha da Silva Marques, por serem minha força.

Aos meus sogros, Nina Rosa Becker da Silveira e Ireno Soares Marques, por serem minha rede de apoio.

À colaboradora do meu trabalho, que me ajudou a me desenvolver como mestranda: Juliana Santos.

Às minhas colegas de laboratório Graziela Scheuer, Tainara Benin, Josué Guilherme e Daniela Schimitt, pelo auxílio nas atividades do laboratório.

À Rafaela Oliveira, por ser minha companheira de laboratório desde a iniciação científica.

À professora Rosane Soares e sua aluna Joice, pelas análises reológicas.

À professora Luiza Abrahão Frank, pelas análises microbiológicas.

Aos meus colegas do Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia, por sua ajuda e por compartilharem o espaço físico, com disposição e compreensão para realização deste trabalho.

À professora Dra. Karina Paese, além da sua orientação, pela paciência, compreensão e apoio.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de fazer meus estudos de Pós-Graduação.

Ao Grupo Panvel, Prima Pharma Farmácia de Manipulação e Kley Hertz Farmacêutica S.A. por compreenderem e me permitirem trabalhar e estudar.

Aos órgãos pelo apoio financeiro à pesquisa, como FAPERGS, CNPq, Laboratório 405 e Central Analítica I da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



## RESUMO

Considerando o número limitado de medicamentos para tratamento de conjuntivite o uso de substâncias de origem natural, como a curcumina, é uma alternativa. Contudo este polifenol apresenta fotossensibilidade e instabilidade química em pH neutro e alcalino. Adicionalmente, a via de administração oftálmica apresenta limitações de uso como o reduzido tempo de residência da forma farmacêutica, assim, o emprego da nanotecnologia associada ao desenvolvimento de uma formulação semissólida estéril torna-se uma alternativa para reverter estas limitações. O objetivo do trabalho foi desenvolver e caracterizar físico-quimicamente um hidrogel termossensível estéril que contém nanocápsulas de curcumina para uso oftalmológico, padronizando-se as condições ideais de esterilização final. As nanocápsulas foram produzidas por deposição interfacial do polímero pré-formado, utilizando Eudragit® RS100 como material estruturante e glicerina para ajustar osmolaridade. A formulação nanotecnológica desenvolvida foi incorporada em hidrogel termossensível e esterilizada por autoclavagem: 121 °C por 15 minutos ou 134 °C por 10 minutos. As características físico-químicas: distribuição e diâmetro médio de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, teor e a taxa de associação foram avaliadas antes e depois do processo de esterilização, adicionalmente a formulação final foi avaliada quanto temperatura de transição sol-gel, esterilidade e o potencial de irritação. O perfil granulométrico não foi alterado após o processo de esterilização, bem como após a incorporação do Poloxamer® 407. O tamanho de partícula observado para as nanocápsulas antes e depois da incorporação no hidrogel foi inferior a 300 nm e o potencial zeta em torno de + 6 mV. O teor inicial de curcumina foi de 97%, após a esterilização observou-se diminuição no teor, embora a taxa de associação tenha permanecido 100%. A esterilização a 134 °C por 10 minutos mostrou-se eficaz e não alterou as características nanotecnológicas tampouco as propriedades de termossensibilidade do hidrogel (transição SOL-GEL entre 25 a 35 °C). Adicionalmente, as suspensões de nanocápsulas e os hidrogéis não possuem potencial de irritação. Os resultados indicaram se tratar de uma formulação nanotecnológica termossensível promissora para aplicação ocular.

**Palavras-chave:** Nanocápsulas poliméricas; Curcumina; hidrogel termossensível; esterilização.



## ABSTRACT

Considering the limited number of medications for the treatment of conjunctivitis, the use of substances of natural origin, such as curcumin, is an alternative. However, this polyphenol presents photosensitivity and chemical instability at neutral and alkaline pH. Additionally, the ophthalmic route of administration presents limitations of use such as the reduced residence time of the pharmaceutical form, thus, the use of nanotechnology associated with the development of a sterile semi-solid formulation becomes an alternative to revert these limitations. The objective of this work was to develop and physicochemically characterize a sterile thermosensitive hydrogel containing curcumin nanocapsules for ophthalmological use, standardizing ideal conditions for final sterilization. Nanocapsules were produced by interfacial deposition of preformed polymer, using Eudragit® RS100 as structuring material and glycerin to adjust osmolarity. The developed nanotechnological formulation was incorporated into a thermosensitive hydrogel and sterilized by autoclaving: 121 °C for 15 minutes or 134 °C for 10 minutes. The physicochemical characteristics: distribution and average particle diameter, polydispersity index, zeta potential, content and association rate were evaluated before and after the sterilization process, additionally the final formulation was evaluated in terms of sol-gel transition temperature, sterility and the potential for irritation. The granulometric profile was not altered after the sterilization process, as well as after the incorporation of Poloxamer® 407. The particle size observed for the nanocapsules before and after incorporation into the hydrogel was less than 300 nm and the zeta potential around + 6 mV. The initial curcumin content was 97%, after sterilization there was a decrease in the content, although the association rate remained 100%. Sterilization at 134 °C for 10 minutes was effective and did not alter the nanotechnological characteristics or the thermosensitivity properties of the hydrogel (SOL-GEL transition between 25 and 35 °C). Additionally, nanocapsule suspensions and hydrogels have no irritation potential. The results indicated that it is a promising thermosensitive nanotechnology formulation for ocular application.

**Keywords:** Polymeric nanocapsules; Curcumin; Thermosensitive hydrogel; Sterilization.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 – Estrutura química do Poloxamer® 407. Copolímero formado por três blocos: X: Bloco de PEO (óxido de polietileno); Y: Bloco de PPO (óxido de polipropileno); Z: Bloco de PEO (óxido de polietileno) .....	28
Figura 2 – <i>Curcuma longa</i> Linn. 1. Aspecto geral. 2. Detalhe da inflorescência. 3. Sistema subterrâneo constituído por rizomas e raízes adventícias. 4. Detalhe dos rizomas. 5. Detalhe do rizoma mostrando as cicatrizes das brácteas secas. 6. Rizoma cortado evidenciando a cor vermelho alaranjada .....	30
Figura 3 – Estrutura química da curcumina .....	31
Figura 4 – Fórmula estrutural dos polimetacrilatos e substituições do Eudragit® RS100 .....	34

### CAPÍTULO II: ARTIGO CIENTÍFICO

<b>Figura 1.</b> Estrutura química da curcumina .....	44
<b>Figura 2.</b> Gráfico radar obtido a partir dos valores de $D[4,3]$ , $d_{10}$ , $d_{50}$ , $d_{90}$ por volume e por número, obtidos por difração de laser, representando a média três lotes. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; NCc 121 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 121 °C por 15 minutos; NCc 134 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos.....	54
<b>Figura 3.</b> Distribuição de tamanho de partícula obtido por espectroscopia de correlação de fótons. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; NCc 121°C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 121 °C por 15 minutos.; NCc 134°C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos .....	55
<b>Figura 4.</b> Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. <b>a.</b> NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina. <b>b.</b> NCc 134°C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. (Barra = 200 nm).....	58

**Figura 5.** Distribuição de diâmetro de partícula, obtido por espectroscopia de correlação de fótons dos hidrogéis produzidos com duas concentrações de Poloxamer® 407 contendo nanocápsulas poliméricas de curcumina. NCc 14% hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 14%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 14% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos..... 60

**Figura 6.** Temperatura de transição sol-gel ( $T_{sol-gel}$ ) obtida na inflexão da curva plotando temperatura versus módulo de perda. HNCc 14%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 14% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HH2O 14%: hidrogel produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407; HH2O 14% 134 °C: hidrogel produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HH2O 20%: hidrogel produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; HH2O 20% 134 °C: hidrogel produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. 66

**Figura 7.** A inoculação da formulação (durante 48 h a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ , ) em um meio de Ágar sangue **a.** NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina **b.** HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407 **c.** NCc 134 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina submetidas ao processo de autoclavagem a 134 °C por 10 minutos.; **d.** HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. Meio Sabouraud

*e. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina f. HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407 g. NCc 134 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina submetidas ao processo de autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; h. HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos.....70*

**Figura 8.** *Teste da membrana corioalantóide do ovo de galinha embrionado (HET-CAM), para avaliação do potencial irritante das formulações. a. Controle negativo NaCl; b. Controle positivo NaOH (hemorragia e vasodilatação). c. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; d. NCc 134 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina submetidas ao processo de autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; e. HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; f. HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos .....73*



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Características físico-químicas das formulações NCc antes da autoclavagem e após submetidas aos dois diferentes ciclos de esterilização. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; NCc 121°C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 121 °C por 15 minutos.; NCc 134°C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina e submetidas a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos .....56
- Tabela 2.** Características físico-químicas dos hidrogéis termossensíveis desenvolvidos antes e depois da autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos ..... 62
- Tabela 3.** Caracterização física de hidrogéis através de teste de inversão do tubo a 4, 22 e 37 °C e tempo de gelificação em 37°C. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; HH<sub>2</sub>O 14% 134 °C: hidrogel produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 min; HH<sub>2</sub>O 20% 134 °C: hidrogel produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HNCc 14% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. L-Líquido; L/G-líquido viscoso; G-Gel .....631
- Tabela 4.** Caracterização física do hidrogel por meio da avaliação da capacidade gelificante a 37 °C. NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; HH<sub>2</sub>O 14% 134 °C: hidrogel produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HH<sub>2</sub>O 20% 134 °C: hidrogel produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HNCc 14% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 14% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos +

Gelifica devagar e dissolve; ++ Gelifica imediatamente e permanece por algumas horas; +++ Gelifica imediatamente e permanece por um longo período de tempo; +/+++ Gelifica imediatamente e dissolve.....642

**Tabela 5.** Valores de absorbância das formulações após 48 h de incubação com meio LB ( $\lambda = 370$  nm). NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; NCc 134 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina submetidas ao processo de autoclavagem a 134 °C por 10 minutos.; HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. Os valores representam média  $\pm$  desvio padrão (n = 3) .....67

**Tabela 6.** Potencial de irritação das diferentes formulações obtidos pelo teste da membrana corioalantóide do ovo de galinha embrionado (HET-CAM). NCc: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina; NCc 134 °C: nanocápsulas poliméricas contendo curcumina submetidas ao processo de autoclavagem a 134 °C por 10 minutos.; HNCc 20%: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407; HNCc 20% 134 °C: hidrogel contendo nanocápsulas de curcumina e produzido com 20% (m/m) de Poloxamer® 407, submetido a autoclavagem a 134 °C por 10 minutos. NaOH 0,1 M: controle positivo; LSS 1% (p/p): controle positivo; Soro fisiológico: controle negativo .....71

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>23</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	23
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>25</b>
3.1	CONJUNTIVITE.....	25
3.2	VIA DE ADMINISTRAÇÃO OFTÁLMICA.....	26
3.3	CURCUMINA.....	29
3.4	USO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS COM FINALIDADE MUCOADESIVA .....	32
3.5	INCORPORAÇÃO DE NANOCÁPSULAS EM HIDROGÉIS TERMOSENSÍVEIS .....	35
3.6	ESTERILIZAÇÃO DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS.....	36
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II: ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>41</b>
4.1	INTRODUÇÃO .....	44
4.2	PARTE EXPERIMENTAL.....	46
<b>4.2.1</b>	<b>Materiais.....</b>	<b>46</b>
4.2.1.1	Preparação de nanocápsulas poliméricas.....	46
4.2.1.2	Produção do hidrogel termossensível .....	46
4.2.1.3	Estudos dos ciclos de esterilização .....	47
4.2.1.4	Caracterização físico-química das formulações desenvolvidas .....	47
4.2.1.5	Metodologia analítica para quantificação de curcumina .....	48
4.2.1.6	Determinação do teor e eficiência de encapsulação.....	48
4.2.1.7	Análise morfológica .....	49
4.2.1.8	Avaliação microbiológica: Teste de fungo e bactéria .....	49
4.2.1.9	Avaliação microbiológica: Teste de turbidimetria.....	49
<b>4.2.2</b>	<b>Avaliação das características de termossensibilidade do hidrogel desenvolvido.....</b>	<b>50</b>
4.2.2.1	Teste de inversão do tubo.....	50
4.2.2.2	Tempo de Gelificação.....	50
4.2.2.3	Capacidade de Gelificação .....	51

<b>4.2.3</b>	<b>Determinação da temperatura sol-gel.....</b>	<b>51</b>
4.2.3.1	Determinação do potencial irritante: HET CAM.....	51
4.2.3.2	Análise estatística.....	52
4.3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas poliméricas de curcumina</b>	
<b>4.3.2</b>	<b>Desenvolvimento de hidrogel termossensível estéril contendo NCc.....</b>	<b>59</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Caracterização da termossensibilidade do hidrogel.....</b>	<b>62</b>
4.3.3.1	Teste do tubo invertido e tempo de gelificação.....	62
4.3.3.2	Capacidade gelificante.....	64
4.3.3.3	Avaliação Reológica.....	65
<b>4.3.4</b>	<b>Avaliação microbiológica.....</b>	<b>67</b>
4.3.4.1	Teste de turbidimetria.....	67
4.3.4.2	Avaliação microbiológica: Teste de fungo e bactéria.....	68
4.3.4.3	Avaliação do potencial irritante dos hidrogéis.....	71
4.4	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>73</b>
4.5	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>74</b>
<b>5</b>	<b><u>CONCLUSÕES.....</u></b>	<b>75</b>
<b>6</b>	<b><u>PERSPECTIVAS.....</u></b>	<b>77</b>
	<b><u>REFERÊNCIAS.....</u></b>	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das doenças mais recorrentes na população mundial é a conjuntivite, uma inflamação na conjuntiva, membrana transparente e fina que reveste a parte externa da córnea e o interior das pálpebras. Pode ser causada por alérgenos (afetando 10–20% da população mundial), vírus ou bactérias. Caracteriza-se por ser altamente contagiosa, cujo tratamento pode necessitar de antibióticos. Dentre os principais sintomas, estão: olhos vermelhos e lacrimejantes, pálpebras inchadas, sensação de areia ou ciscos nos olhos, coceira, fotofobia entre outros (PATEL *et al.*, 2018).

Para o tratamento da conjuntivite é ideal a administração tópica do medicamento, uma vez que esta é considerada uma via simples, eficaz e segura. Porém, esta via possui algumas limitações de uso, dentre elas destacam-se: a baixa penetração intraocular devido à fisiologia da barreira hematorretiniana externa, o alto *clearance*, caracterizado pela drenagem do filme lacrimal, reflexo de lacrimejamento, piscar no ato de instilar a forma farmacêutica (geralmente colírio), além do limitado volume da forma farmacêutica capaz de se manter no fundo do saco conjuntival (AGARWAL; CRAIG; RUPENTHAL, 2021).

Um dos focos do tratamento da conjuntivite é o uso de substâncias anti-inflamatórias, e neste sentido destaca-se a curcumina. Esta substância é um produto de origem vegetal extraído do rizoma da *Curcuma Longa* Linn, espécie que pertence à família da Zingiberacea. A curcumina está presente de 2–5% no açafrão (PESCOSOLIDO *et al.*, 2014). Estudos demonstraram o potencial dessa substância na prevenção e tratamento de diferentes doenças, especialmente devido a suas ações antitumoral, antioxidante e anti-inflamatória (SHISHODIA, 2013). Essas outras propriedades também auxiliam no tratamento da fisiopatologia da conjuntivite, sendo assim, a curcumina destaca-se ainda mais por ser uma substância ativa com alto potencial terapêutico. Atualmente utiliza-se corticoides em casos de inflamação da conjuntiva, contudo possui poucas opções de tratamentos naturais que poderiam ser utilizados no início do tratamento evitando assim uso de outras substâncias como de antibióticos como cloridrato de moxiflicacino.

De acordo com a classificação biofarmacêutica, a curcumina é uma molécula tipo IV. Dessa forma, apresenta baixa solubilidade e baixa permeabilidade através de

membranas biológicas Apesar do potencial terapêutico da curcumina, este polifenol apresenta fotossensibilidade e instabilidade química frente a meio alcalino e neutro, sendo assim é estável na faixa de pH entre 3,0 e 5,0. Devido a sua natureza hidrofóbica e de dificuldade de solubilizar em meio fisiológico, sua biodisponibilidade é baixa (ZHEN *et al.*, 2014).

Os sistemas nanoestruturados são estruturas coloidais com diâmetro entre 100–1000 nm, cujas principais vantagens são: controle de liberação das substâncias nanocapsuladas, aumento da estabilidade química destas substâncias, aumento da solubilidade aparente e aumento da biodisponibilidade, conseqüentemente permitindo uma dosagem terapêutica menor, e a diminuição de efeitos colaterais (POHLMANN *et al.*, 2013). Considerando que a via ocular permite que um pequeno volume da forma farmacêutica seja administrado, estudos já foram desenvolvidos para propor uma formulação contendo curcumina nanoencapsulada para essa via visando reduzir a dosagem da substância ativa que facilitaria a aplicação na via oftálmica e reduziria os efeitos adversos, como prurido, visão turva, dor nas pálpebras (ANJANA *et al.*, 2012.). Além disso, há relatos na literatura de nanocápsulas de PCL contendo curcumina para tratamento de câncer de boca (ORTEGA *et al.*, 2022).

Tendo em vista o alto *clearance* da região ocular, o uso de géis, em especial hidrogéis termossensíveis, se mostra uma alternativa viável para contornar esse limitador. Os hidrogéis são formados por uma rede polimérica que pode absorver e reter água, como o polímero Poloxamer<sup>®</sup> 407 (SCHOPF *et al.*, 2015). Além do aumento do tempo de permanência da forma farmacêutica na região ocular, deve-se garantir esterilidade de produtos utilizados nessa via, segundo os critérios preconizados pela resolução da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

Para produtos de uso oftalmológico, as condições fundamentais de colírios são: osmolaridade adequada, neutralidade isotônica e ausência de partículas e, principalmente, esterilidade. A osmolaridade é definida pela concentração de um soluto em solvente, no caso do corpo humano o solvente é água e o soluto é composto pelos sais como sódio, uréia e glicose. A osmolaridade normal da via ocular é de 290 mOsm/L. Dentre as metodologias de esterilização disponíveis, destacam-se a esterilização com calor seco e com calor úmido (BRASIL, 2010). A esterilização a seco utiliza estufas de ar quente. Já

o processo de autoclavagem é caracterizado por ocorrer na presença de elevada temperatura e pressão cujo vapor produzido esteriliza o produto. Este processo pode ser utilizado para esterilizar matérias-primas ou produtos acabados e seu custo é baixo (BERNAL-CHÁVEZ *et al.*, 2021).

Sendo assim, o presente trabalho visa associar a nanoencapsulação e o uso de hidrogel ao propor o desenvolvimento tecnológico de um hidrogel termossensível estéril contendo suspensão de nanocápsulas de curcumina para tratamento de inflamações oculares, uma vez que a esterilização de hidrogel termossensível contendo nanocápsulas é uma estratégia inédita.

Esta dissertação será apresentada na forma de dois capítulos. No primeiro capítulo encontra-se a revisão de literatura e no segundo, a metodologia, os resultados obtidos e a discussão destes resultados, apresentados em formato de artigo, seguindo as normas da Revista Química Nova. Para facilitar a leitura do artigo, este foi disposto em uma única coluna, diferente do que é solicitado nas normas da revista. Adicionalmente, as figuras e tabelas serão apresentadas ao longo do trabalho, para tornar a leitura e análise dos resultados mais cômoda.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver e caracterizar físico-quimicamente um hidrogel termossensível contendo nanocápsulas de curcumina para uso oftalmológico e estudar o processo de esterilização proposto.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver nanocápsulas de Eudragit<sup>®</sup> RS100 contendo curcumina;
- Caracterizar físico-quimicamente a formulação produzida;
- Desenvolver hidrogel termossensível de Poloxamer<sup>®</sup> 407 contendo nanocápsulas de curcumina;
- Otimizar um protocolo de autoclavagem para o hidrogel desenvolvido;
- Caracterizar físico-quimicamente os hidrogéis antes e após a autoclavagem para avaliar o impacto do processo nas características nanotecnológicas do produto;
- Avaliar as características reológicas do hidrogel termossensível;
- Avaliar a esterilidade das formulações após o processo de autoclavagem;
- Avaliar potencial irritação do hidrogel desenvolvido.



### 3 CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CONJUNTIVITE

A conjuntivite é um processo inflamatório da conjuntiva, caracterizada por uma dilatação vascular, infiltração celular e exsudação. Seus sintomas incluem hiperemia e edema, contudo esses sintomas são inespecíficos. A conjuntivite pode ser a manifestação de um processo infeccioso local ou o sinal de uma doença sistêmica. Existem três diferentes causas de conjuntivite: bacteriana, viral ou alérgica (BICAS *et al.*, 1992).

A conjuntivite bacteriana é caracterizada quando há um desequilíbrio da flora bacteriana da conjuntiva. A maioria dos quadros se caracterizam por conjuntivite bacteriana agudas (< 4 semanas) são frequentemente causadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus spp.* (LIMBERG, 1991). Suas manifestações clínicas são geralmente bilaterais (afetam os dois olhos, sendo o segundo acometido 2–3 dias depois do primeiro), geram sensação de corpo estranho, secreção mucopurulenta e hiperemia conjuntival difusa. Neste caso, o controle da infecção bacteriana faz parte do tratamento e é realizado com o uso de antibióticos tópicos de amplo espectro (como, por exemplo, as tetraciclinas) ou combinação de medicamentos (por exemplo, neomicina, bacitracina, polimixina; sulfato de trimetoprima e sulfato de polimixina B) (STEINERT, 1991; HONKILA *et al.*, 2022).

A conjuntivite viral é frequentemente causada por adenovírus. Existem 41 espécies de adenovírus humanos, divididos em 6 diferentes subgêneros (A–F), de acordo com a homologia do DNA. Duas formas clínicas de conjuntivite causadas por adenovírus são mais comumente encontradas, a ceratoconjuntivite epidêmica e a febre faringoconjuntival. Ambas são altamente contagiosas e podem permanecer por um período de até 12 dias após o início dos sintomas.

Na ceratoconjuntivite epidêmica, o paciente desenvolve conjuntivite folicular unilateral que pode ou não envolver o olho contralateral (que em geral apresenta um quadro clínico mais moderado). Devido ao intenso processo inflamatório, torna-se difícil a identificação por folículos. A conjuntivite tem um curso de 7–14 dias, contudo a ceratite pode levar à baixa de acuidade visual (baixa nitidez) e os infiltrados

subepiteliais podem persistir por meses. Na febre faringoconjuntival, o paciente apresenta como manifestação clínica febre, faringite, conjuntivite folicular bilateral e inflamação do gânglio pré-auricular. Também pode apresentar ceratite epitelial difusa e os infiltrados subepiteliais podem persistir por meses. Neste caso, a terapia se dá através de repouso, analgésicos e anti-inflamatórios, compressa gelada e adstringente tópico (BICAS *et al.*, 1992).

Por último, a conjuntivite alérgica é caracterizada pelo quadro inflamatório recorrente, devido à exposição a um alérgeno, causando uma hipersensibilidade do tipo I e/ou IV em períodos de melhora e piora. O prurido é o primeiro sintoma e o mais característico (BICAS *et al.*, 1992). A febre do feno (conjuntivite alérgica aguda) ocorre em resposta ao contato com o alérgeno, resultando na formação do complexo alérgeno IgE-mastócito e a liberação de mediadores químicos. Sua manifestação clínica apresenta quadro agudo de prurido, ardor, edema palpebral, hiperemia conjuntival, quemose (inchaço da conjuntiva) e secreção mucóide, com concomitantemente rinite e/ou sinusite. Neste caso, o tratamento consiste em uso tópico de inibidores de granulação dos mastócitos (como o cromoglicato dissódico) e anti-histamínicos sistêmicos. No Brasil, existem poucos relatos devido à falta de susceptibilidade na população, baixa densidade de pólen, estação polínica muito curta ou pólenes com baixo poder antigênico.

Já a ceratoconjuntivite primaveril se caracteriza por uma inflamação crônica bilateral da conjuntiva. É caracterizada pela presença de prurido constante e severo, fotofobia e secreção mucosa, que geralmente piora nos meses mais quentes e secos. O tratamento consiste em uso tópico de inibidores da granulação dos mastócitos, vasoconstritores e anti-inflamatório da classe dos corticoides que possuam mecanismos de ação como bloquear a fosfolipase A2, inibir a função de células como linfócitos e macrófagos, reduzir a histamina e inibir a ativação das células T (BICAS *et al.*, 1992; MARBACK *et al.*, 2007; VILLEGAS; BENITEZ-DEL-CASTILLO, 2021).

### 3.2 VIA DE ADMINISTRAÇÃO OFTÁLMICA

A córnea apresenta estrutura trilaminar “lipídio-água-lipídio”, respectivamente epitélio, estroma e endotélio corneal. O epitélio e o endotélio apresentam características hidrofóbicas e o estroma característica hidrofílica. Deste modo, a substância ativa de

interesse precisa apresentar características hidrofílicas e hidrofóbicas simultaneamente para possuir uma boa penetração através da córnea, permitindo a utilização dessa via como uma via de administração (LIMA FILHO *et al.*, 2008).

A administração de medicamentos pela via oftálmica consiste na aplicação direta na conjuntiva ocular. A sua absorção é pelo epitélio do saco conjuntival, que por possuir uma pequena área, torna-se restrita. Dentre as formas farmacêuticas disponíveis para administração nesta via destacam-se os colírios e as pomadas. Para o tratamento de conjuntivites, a forma farmacêutica colírio tem maior aplicabilidade, devido à sua simplicidade de composição e eficácia conhecida, devido à aplicação diretamente na córnea e conjuntiva (LIMA FILHO *et al.*, 2008).

O uso da via oftálmica para a administração de medicamentos apresenta limitações, como instilar o colírio, o ato de piscar, o fluxo lacrimal ( $19,7 \pm 6,5 \mu\text{L}/\text{min.}$ ), deixando assim uma janela curta (aproximadamente 7 minutos para a absorção da substância ativa) (PEARCE *et al.*, 2011) e estima-se que apenas 20% da dose instilada seja retida no saco conjuntival (SCHOENWALD, 1990). Sendo assim, observa-se uma necessidade de maior tempo de contato com a córnea (PATEL *et al.*, 2013).

Considerando estas limitações, uma possibilidade é aumentar o tempo de permanência da forma farmacêutica no local de administração. Para isso podem ser utilizados hidrogéis, como forma farmacêutica final.

Por definição, os hidrogéis são redes poliméricas de natureza hidrofílica, que possuem uma configuração tridimensional capaz de reter água conservando sua estrutura. O entumescimento em meio aquoso ocorre devido aos grupos funcionais presentes nas suas cadeias poliméricas, como hidroxilas, carboxilas, grupo amino ou ácido sulfônico nas porções finais das cadeias poliméricas (KOETTING *et al.*, 2015). Os hidrogéis têm sido utilizados em diversas vias, incluindo cutânea, bucal, vaginal e oftálmica. Géis oftálmicos são compostos hidrofílicos que prolongam o tempo de contato com a córnea devido à propriedade mucoadesiva dada sua alta viscosidade e liberam o medicamento por difusão após erosão do polímero gelificante (ALMEIDA *et al.*, 2014; Cl *et al.*, 2017; SOLIMAN *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2019).

Os poloxâmeros são uma família de polímeros anfifílicos não-iônicos sintéticos constituídos quimicamente por um bloco de copolímeros com segmentos de óxido de

polipropileno (PPO) hidrofóbico e óxido de polietileno (PEO) hidrofílico que são empregados para a produção de hidrogéis termossensíveis (SOLIMAN *et al.*, 2019).

O Poloxamer<sup>®</sup> 407 (Figura 1), também conhecido como Pluronic<sup>®</sup> F127, possui peso molecular de 12,6 kDa. A conversão sol-gel ocorre de forma reversível, devido às interações hidrofóbicas entre as cadeias dos copolímeros. Com o aumento da temperatura, essas cadeias de copolímeros começam a se agregar formando micelas. A condição para isso ocorrer é de que a concentração do polímero tem de ser maior do que a concentração micelar crítica (CMC). Como resultado ocorre a desidratação do núcleo formado pela região hidrofóbica e a hidratação da porção hidrofílica. A concentração desse poloxâmero não iônico pode variar de 10% a 20% (m/v) para atingir uma temperatura de transição próximo a temperatura corporal (GIULIANO *et al.*, 2018).

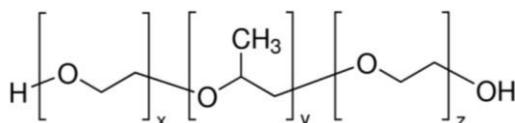


Figura 1 – Estrutura química do Poloxamer<sup>®</sup> 407. Copolímero formado por três blocos: X: Bloco de PEO (óxido de polietileno); Y: Bloco de PPO (óxido de polipropileno); Z: Bloco de PEO (óxido de polietileno).bFonte: Giuliano *et al.* (2018).

Ao atingir o estado GEL, formação do gel, geram-se núcleos cúbicos ou hexagonais com estrutura organizada. Essa estrutura permite solubilização de substâncias tanto hidrofílicas como lipofílicas. As substâncias lipofílicas permanecem em suspensão na parte hidrofóbica, junto ao PPO, e as substâncias hidrofílicas interagem com a porção PEO (RENÇBER *et al.*, 2017).

Esse processo de gelificação *in situ* apresenta vantagens, dentre elas destacam-se: a fácil administração; o espalhamento no sítio (local) de aplicação, devido à transição de estado líquido (sol/colírio) a semissólido (gel); a formulação torna-se mais consistente, ao permitir uma liberação mais controlada do fármaco ou substância ativa associada, diminuindo, dessa forma, a influência do *clearance* em comparação com formulações convencionais, por exemplo colírios (SOLIMAN *et al.*, 2019).

O Poloxamer<sup>®</sup> 407 a 20% (m/v) associado a nanopartículas de prata, que possuem propriedades antimicrobianas, foi avaliado em casos de prevenção de infecções pós-operatórias no caso de fratura no fêmur. Neste estudo, além de avaliar o tempo de gelificação em tecido de osso *ex vivo post mortem* em ratos, os autores também avaliaram o processo de esterilização final por autoclavagem a 121 °C por 15 minutos. Como resultados, observaram que o tempo de gelificação no tecido ósseo na concentração de 20% (m/v) foi menor de 10 segundos e o processo de esterilização por autoclavagem não alterou as propriedades do gel nem as propriedades nanotecnológicas, ao contrário do método de esterilização por via seca (RAFAEL *et al.*, 2019). Outro estudo avaliou o desenvolvimento de hidrogel termossensível (Poloxamer<sup>®</sup> 407 a 14% (m/m) e Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) 1,5% (m/m)) contendo nanocápsulas de núcleo lipídico de curcumina revestida com quitosana para aplicação bucal. Neste estudo, os autores observaram a não alteração das características nanotecnológicas após a incorporação da suspensão de nanocápsulas no hidrogel, e a temperatura de transição SOL-GEL observada foi de 28,66 °C. Adicionalmente, foi avaliada a mucoadesão, utilizando discos de mucina e analisou-e em texturômetro para se avaliar a força necessária para o descolamento da formulação e dos discos de mucina. Os resultados obtidos demonstraram que os hidrogéis desenvolvidos apresentaram propriedade mucoadesiva ideal para aplicação bucal (ORTEGA *et al.*, 2022).

### 3.3 CURCUMINA

A cúrcuma (*Curcuma longa* Linn) é uma planta herbácea de origem asiática que descende da mesma família do gengibre (Zingiberaceae). Historicamente é conhecida mundialmente por suas aplicações terapêuticas e dietéticas em atividades medicinais (medicamentos), culinárias (presente no tempero curry, corante alimentar natural e conservante), cosméticas, dermatológicas e religiosas (GRASSO; AOYAMA; FURLAN, 2017). É uma espécie perene, caducifólia, aromática, de folhas grandes, longamente pecioladas, invaginantes e oblongo-lanceoladas. As flores amareladas são pequenas e dispostas em espigas compridas. As raízes terminam em rizoma elíptico, de onde partem vários rizomas menores, todos marcados em cicatrizes (anéis) de brácteas

secas. Cada rizoma mede até 10 cm de comprimento e, quando cortados, mostram uma superfície alaranjada (Figura 2) (LORENZI *et al.*, 2008).



Figura 2 – *Curcuma longa* Linn. 1. Aspecto geral. 2. Detalhe da inflorescência. 3. Sistema subterrâneo constituído por rizomas e raízes adventícias. 4. Detalhe dos rizomas. 5. Detalhe do rizoma mostrando as cicatrizes das brácteas secas. 6. Rizoma cortado evidenciando a cor vermelho alaranjada. Fonte: Lorenzi *et al.* (2008).

A partir dos óleos da raiz da cúrcuma são extraídos os curcuminóides (curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina), que possuem uma variedade de propriedades terapêuticas (GUPTA *et al.*, 2012). Dentre os curcuminóides, destaca-se a curcumina com maior atividade farmacológica (Figura 3). A curcumina é classificada como polifenol (compostos biologicamente ativos, geralmente presentes em alimentos de origem vegetal, que possuem benefícios para a saúde, como a atividade anti-inflamatória (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011; MANDAL; JAISWAL; MISHRA, 2020)).

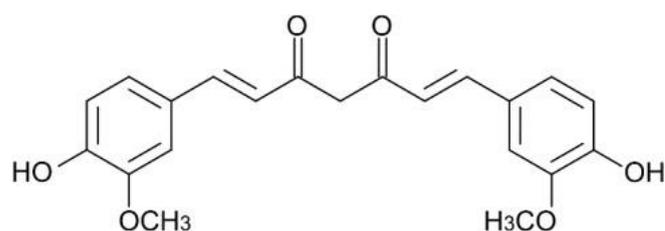


Figura 3 – Estrutura química da curcumina. Fonte: Ortega *et al.* (2022).

Por definição, a resposta inflamatória é a regulação negativa da expressão de proteínas pró-inflamatórias e aumento da expressão de proteínas anti-inflamatórias (CARLI, 2009). Células da imunidade inata como mastócitos, células dendríticas e NK são recrutadas ao local da inflamação. Quando os macrófagos são ativados, o fator de transcrição NF- $\kappa$ B é induzido, levando, assim, a modulação da produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral e interleucinas (IL-6 e IL-10), além da redução das espécies reativas de oxigênio (HE *et al.*, 2015). Estudos avaliaram os mecanismos envolvidos na ação anti-inflamatória da curcumina, dentre eles a interação com as proteínas sinalizadoras do tipo *Expression of growth factor receptor* (Expressão do Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico – EGFR), Fator Nuclear Kappar B (NF- $\kappa$ B) e *Signal transducers and activators of transcription* (Transdutores de sinais e ativadores de transcrição – STAT3) (COSTA, 2014; CREWE *et al.*, 2017; SUSANA, 2018; FERGUSON; ABBOTT; GARG, 2021).

A diminuição de TNF-alfa (Fator de necrose tumoral) altera a medicação celular, eliminando as funções biológicas do COX-2 (Ciclooxigenase-2) e o NF- $\kappa$ B. Além disso, ocorre a regulação negativa da expressão dos genes:  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ , ciclooxigenases 2 (COX 2), prostaglandinas E-2 (PGE-2), interleucinas (IL-1, IL-8) (HAN *et al.*, 2019). Essas propriedades foram vistas em estudos *in vitro* e *in vivo*, na qual os autores avaliaram a síndrome do olho seco, caracterizada por alteração da quantidade de lágrima na superfície ocular decorrente da elevação dos níveis de IL-1 $\beta$ , IL-6, e TNF- $\alpha$ , ativador p38, MAP quinase, JNK MAP quinase e NF- $\kappa$ B. Neste estudo, utilizou-se uma cultura de células de 450 mOsm obtida através da adição da solução de NaCl e citocinas incubadas por 24 h, pré-tratadas com 5 mmol de curcumina com inibidores de IL-1 $\beta$ ,

IL-6 e TNF- $\alpha$ , ativadores p38, MAP quinase, JNK MAP quinase e NF- $\kappa$ B, sugerindo o potencial anti-inflamatório da curcumina (CHEN *et al.*, 2010).

### 3.4 USO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS COM FINALIDADE MUCOADESIVA

Os sistemas nanoestruturados são estruturas coloidais contendo partículas com diâmetro menores do que 1000 nm que podem ser produzidas com lipídios ou polímeros biocompatíveis. Dentre as nanoestruturas poliméricas pode-se citar a classificação entre nanocápsulas e nanoesferas. O primeiro sistema caracteriza-se como vesicular, com uma parede polimérica circundando um núcleo oleoso, e o segundo sistema como sendo matricial (POHLMANN *et al.*, 2013). Estas estruturas apresentam diâmetro médio entre 200 e 300 nm, adequadas para aplicação na via oftálmica (ZHANG *et al.*, 2014).

Novas alternativas de núcleo oleoso têm sido aplicadas nas nanocápsulas, por exemplo o uso de óleos de origem vegetal, como o óleo de semente de uva. Este óleo possui atividade antioxidante já mencionada em estudos empregando modelos *in vivo*. Além disso, demonstra-se uma alternativa para a produção de formulações com curcumina, uma vez que é capaz de solubilizar essa substância (CORADINI *et al.*, 2014; GARAVAGLIA *et al.*, 2016).

Há relatos na literatura de desenvolvimento de formulações nanotecnológicas com o objetivo de aplicação oftálmica. Pignatello e colaboradores (2002) desenvolveram formulações nanotecnológicas de Eudragit<sup>®</sup> RS100 contendo ibuprofeno, para tratamento do olho seco. Os pesquisadores obtiveram tamanho de partícula de 68 nm, potencial zeta de + 30 mV e liberação controlada da substância ativa e aumento da biodisponibilidade (PIGNATELLO *et al.*, 2002). Na nanoencapsulação de flurbiprofeno, empregando os polímeros Eudragit<sup>®</sup> RL e RS100, os autores obtiveram nanopartículas com tamanho de partícula de 80 nm, potencial zeta + 33 mV, liberação controlada do fármaco e forte interação entre a nanopartícula desenvolvida e a córnea (PIGNATELLO *et al.*, 2002). O tratamento de glaucoma também foi estudado, com encapsulação de Etabonato de loteprednol, ao se empregar o polímero Poloxamer<sup>®</sup> 407, obtendo-se partículas de diâmetro entre 50-500 nm, potencial zeta +0,33 mV e aumento significativo da penetração e biodisponibilidade da substância ativa (GONZALEZ *et al.*,

2007). Sendo assim, a associação da nanotecnologia com a administração na via oftálmica torna-se vantajosa, visto o aumento da biodisponibilidade e, conseqüentemente, a redução da frequência de instilação através da maior retenção da formulação no local de administração (GHOLIZADEH *et al.*, 2021).

No caso da curcumina, além de aumentar a solubilidade aparente da substância, a nanocapsulação empregando nanocápsulas poliméricas é capaz de proteger a substância frente à degradação por oxidação e exposição à luz UV devido à barreira polimérica formada pela parede das nanocápsulas. Nanogotículas também podem ser utilizadas. Anajana e colaboradores (2012) desenvolveram nanoemulsões contendo curcumina para tratamento de conjuntivite alérgica. No estudo, avaliaram o uso de diferentes tensoativos e observaram que polissorbato 80 foi o mais adequado para se obter formulações com características nanotecnológicas adequadas e estáveis para aplicação oftálmica (ANJANA *et al.*, 2012).

Tendo em vista o potencial de aplicação oftálmica de formulações nanotecnológicas contendo curcumina, a seleção do polímero estruturante tem grande importância (PIGNATELLO *et al.*, 2002). Os polímeros da série Eudragit<sup>®</sup> vêm sendo utilizados por proporcionar liberação controlada da substância ativa. Adicionalmente, o Eudragit<sup>®</sup> RS100 (Figura 4) é um polímero catiônico formado de acrilato-metacrilato com 4,5% a 6,8% de grupos de amônio quaternário e por isso apresenta características mucadesivas (DOMINGUES, 2006). Estudos demonstram que o uso do polímero Eudragit<sup>®</sup> RS100 possibilita liberação controlada para substâncias com baixa biodisponibilidade, permitindo o aumento do tempo de residência da curcumina na mucosa ocular e que possui boa tolerância em tecidos oculares (ZHANG *et al.*, 2014).

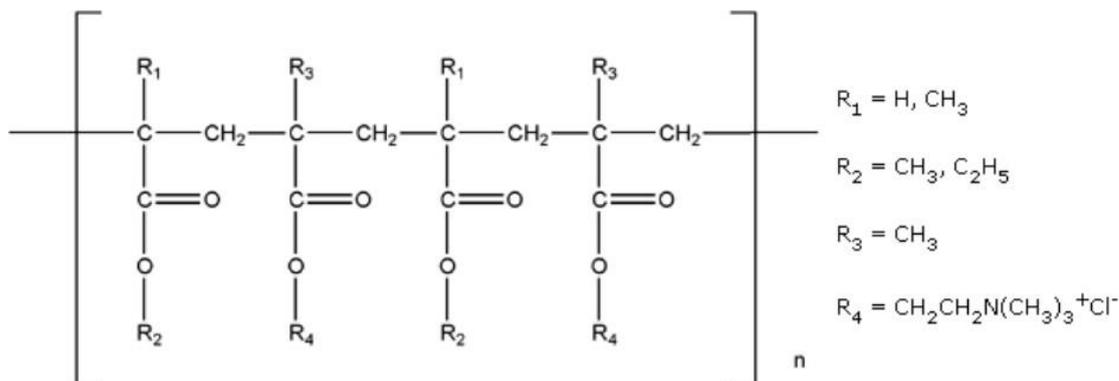


Figura 4 – Fórmula estrutural dos polimetacrilatos e substituições do Eudragit® RS100.

Fonte: Domingues (2006).

O teste de Draize é um teste para determinar irritação ocular realizado em coelhos albinos com 10 a 12 meses, que na atualidade caiu em desuso. Nesse teste aplicou-se uma solução de 0,5% de Eudragit® RS100 na conjuntiva do olho esquerdo do animal por 5 minutos; o olho direito foi utilizado como controle. A avaliação foi realizada a cada 24 h por 3 dias depois da aplicação. Foram avaliados sinais de lacrimejamento, irritação, eritema, edema ou qualquer outro sinal de alteração da via ocular. Terminado o teste, os animais foram eutanasiados e a córnea, conjuntiva e íris retirados, seguido de fixação em formaldeído a 4% para preparo e visualização histológica. Estudos avaliaram o teste de Draize com modificações nos tempos de avaliação após a finalização do experimento. Neste estudo, avaliaram a tolerância ocular de nanosuspensões de polímeros de acrilato (Eudragit® RS100 e RL100) com flurbiprofeno. Os resultados demonstraram-se positivos, pois não foi observado irritação ocular (PIGNATELLO *et al.*, 2002).

Outro estudo desenvolveu nanocápsulas de núcleo lipídico contendo genisteína utilizando o Eudragit® RS100 como polímero para a via oftálmica. Nesse estudo, o tamanho de partícula obtido foi entre 148 a 189 nm e o potencial zeta mostrou-se positivo entre +5 a +14 mV, dependendo da concentração do polímero. O Eudragit® RS100 aumentou a permeabilidade da córnea, contudo, o seu mecanismo não está estabelecido. Acredita-se que isso se deve à aderência eletrostática das nanocápsulas em contato com a superfície da córnea ou por ser um potenciador que facilita a absorção do

fármaco na córnea. Essa hipótese foi confirmada após o grupo analisar o aumento da concentração de Eudragit® RS100 e observar o aumento ligeiro na permeação de 5,81 para 6,71 cm.min<sup>-1</sup>. Avaliou-se também a interação dos diferentes tamanhos de partículas (100 – 400 nm) e não foi observado diferença significativa na retenção pré-corneal *in vivo* em córneas de coelho usando Hawkeye Spect/Ct Câmera Gamma (ZHANG *et al.*, 2014)

Nanosuspensões de Eudragit® RS100 de itraconazol foram desenvolvidas para a via oftálmica e obtiveram tamanho de partícula entre 332,7 a 779,2 nm e potencial zeta positivo de +0,609 a +16,3 mV. A nanoencapsulação aumentou a permeação em comparação ao itraconazol livre, além disso a nanosuspensão demonstrou-se mais ativa contra *Candida albicans* e *Aspergillus flavus* em comparação com o fármaco livre (PAWAR; DUDUSKAR; WAYDANDE, 2021).

### 3.5 INCORPORAÇÃO DE NANOCÁPSULAS EM HIDROGÉIS TERMOSENSÍVEIS

A associação de sistemas carreadores nanoparticulados de fármacos e hidrogéis tem sido o objetivo de diversas pesquisas para obtenção de uma formulação final que visa facilitar a administração de medicamentos associando as vantagens da nanotecnologia. Por exemplo, uma das limitações do hidrogel é possuir um tempo limitado de residência no local de aplicação, devido à sua rápida dissolução em meio aquoso (fluido biológico). Para contornar essa limitação pode-se utilizar a associação com sistemas nanoestruturados.

Os hidrogéis termossensíveis são géis que possuem dois estados físicos, SOL e GEL. Essa conversão acontece nos dois sentidos, SOL para GEL e GEL para SOL. O fenômeno é temperatura dependente e, a sua temperatura de conversão pode alterar dependendo da escolha do polímero e sua concentração (ASFOUR *et al.*, 2021). Com o uso de géis termossensíveis para a via oftálmica, a administração da forma farmacêutica ocorre na forma SOL (estado líquido, como um colírio) e, quando entra em contato com o globo ocular, em especial a córnea, cuja a temperatura é em torno de 34 °C, ocorre a conversão para a forma GEL, de maior consistência, possibilitando maior permanência no local de aplicação (PATEL *et al.*, 2013; ASFOUR *et al.*, 2021).

Estudos apresentaram os benefícios do uso de diferentes poloxâmeros (como Poloxamer® 124, 407 e 235) com gelificação *in situ* para administração pela via oftálmica, tendo em vista suas vantagens quanto à boa solubilidade em água, produção de soluções límpidas, viscosidade dependente da concentração e sua segurança em tecidos oculares, além de permitir o processo de esterilização permanecendo com as propriedades físico-químicas iniciais (SOLIMAN *et al.*, 2019).

Adicionalmente, um estudo avaliou o desenvolvimento de nanopartículas de prata incorporadas em hidrogel de Pluronic F127 nas concentrações 15 a 40% (m/v). Nesse estudo, avaliaram o tempo de gelificação *in vitro* e *post mortem* em fêmur de ratos nas concentrações de 17,5% e 20% (m/v). Observaram o longo tempo de gelificação (> 60 segundos) para 17,5% (m/v) e menor do que 10 segundos para a concentração de 20% (m/v) (RAFAEL *et al.*, 2019). Outro estudo avaliou a associação de Poloxamer® 407 e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) nas concentrações de 14% e 1,5% (m/m), respectivamente, incorporado em nanocápsulas do poli(ε-caprolactona) (PCL) contendo curcumina revestidas com quitosana. Como destacado anteriormente, a formulação final apresentou temperatura de transição sol-gel próxima à temperatura corporal, além de apresentar propriedades mucoadesivas (ORTEGA *et al.*, 2022).

### 3.6 ESTERILIZAÇÃO DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS

O conceito de esterilidade é definido como a ausência de formas viáveis de microrganismos capazes de reprodução. O processo de esterilização de uma formulação farmacêutica pode ser terminal ou ainda as matérias-primas esterilizadas e o processo de manipulação/produção ser asséptico. O processo de esterilização terminal, pode ser físico (com utilização de calor úmido ou seco, por filtração esterilizante ou com utilização de irradiação ionizante ou químico (com uso de óxido de etileno) objetivando a não proliferação (morte) dos microrganismos presentes nas formulações (Vetten *et al.*, 2014).

Esterilização por óxido de etileno é devido a propriedade dessa substância em estado gasoso, de ser capaz de promover a alquilação das principais cadeias proteicas de microrganismos, impedindo a multiplicação celular. A principal vantagem desse processo é o uso de baixas temperaturas (cerca de 50 °C), o que se torna viável para

produtos termolábeis. Entretanto esse processo demanda cuidados ocupacionais, devido à sua toxicidade e inflamabilidade. Devido à presença de íons cloro, ocorre a formação de etineclorodrina, altamente tóxica, necessitando assim de períodos de quarentena para assegurar a completa eliminação desse resíduo. Esse período é determinado após a monitorização desses resíduos utilizando a técnica de cromatografia gasosa (SAFAR, 2012).

O processo de esterilização por filtração é um processo físico que remove as impurezas microrganismos e pequenas partículas com o objetivo de esterilizar o produto. A medida que a solução passa pela membrana de 0,2  $\mu\text{m}$  as substâncias/partículas de diâmetro superior ficam retidas no sistema de filtração. A integridade do filtro deve ser conferida para o método ser considerado apropriado. Destaca-se que o diâmetro do sistema de filtração limita o uso deste processo para a esterilização de formulações de base nanotecnológica com diâmetro superior ao ponto de corte de membrana esterilizante (SAFAR, 2012).

Esterilização por irradiação é um método físico que utiliza fontes radioativas de Cobalto ou Césio, empregando baixa temperatura. Nesse método não é necessário o período de quarentena após a exposição à radiação. Contudo, a integridade da amostra deve ser verificada frente a dose mínima necessária (em kGy) para a esterilização (calculada em função da carga microbiana do produto). A planta de esterilização deve atender à exigência relativas à segurança ocupacional e, ambiental como a presença de barreira de contenção, por exemplo parede de concreto (SAFAR, 2012).

Por último, o calor é o agente esterilizante mais usado, o mais econômico e o mais fácil de manusear. Processo de esterilização por calor seco pode ser utilizado para esterilização/despirogenização. Usualmente utiliza temperaturas entre 170-190 °C para esterilização e superiores a 250 °C para despirogenização. O processo apresenta desvantagem, quando comparado ao calor úmido, por apresentar menor transferência de calor à carga e, por isso, a necessidade de uso de temperaturas mais elevadas. A avaliação da distribuição da temperatura, assim com a distribuição da carga na câmara de esterilização/despirogenização é um aspecto a ser considerado durante a validação do processo (SAFAR, 2012).

O calor úmido quando comparado ao calor seco é um processo mais efetivo considerando o uso de temperaturas mais baixas e do curto período de tempo necessário para garantir o nível de esterilidade desejado. Além disso, esse tipo de calor apresenta melhor penetração e transmissão de calor à carga, considerando isso a câmara de esterilização deve estar saturada de vapor, para isso a retirada de ar seco e subsequente injeção de vapor pode auxiliar nesse processo (BERNAL- CHAVEZ *et al.*, 2021).

O uso de autoclave para esterilização de nanocápsulas poliméricas foi avaliado utilizando poli( $\epsilon$ -caprolactona) como polímero estruturante. Neste estudo três ciclos de esterilização 121 °C por 30 minutos (1,22 bar), 132 °C por 20 minutos (2,10 bar) e, 134 °C por 10 minutos (2,10 bar) foram avaliados. Após a esterilização no ciclo 121 °C por 30 minutos foi observado o perfil multimodal para o diâmetro de partícula, devido a agregação das partículas após o processo de esterilização. Os ciclos de 132 °C e 134 °C não alteraram as características nanotecnológicas independente do ciclo, permanecendo distribuição de diâmetro unimodal após o processo. Com a utilização de temperaturas acima do ponto de nuvem do tensoativo (92°C, no caso do polissorbato 80), micelas de tensoativo que ficam em torno das nanocápsulas se deslocam, deixando a superfície desprotegida. Os autores discutem que esse processo de desorção do tensoativo não-iônico da superfície das nanocápsulas pode promover a agregação das partículas, sendo assim, quanto maior o tempo de exposição a uma temperatura acima do ponto de nuvem, maior a desorção do tensoativo, logo maior agregação. Uma vez que as três temperaturas avaliadas foram superiores o ponto de nuvem o maior tempo de exposição, no ciclo 121 °C por 30 minutos (1,22 bar), foi responsável pela agregação das nanocápsulas, o que não foi observado nos ciclos com menor tempo de exposição. A presença de glicerina (como utilizado no estudo), pode aumentar a temperatura do ponto de nuvem do tensoativo e também colaborar para a manutenção da estabilidade do sistema após autoclavagem, (PAESE *et al.*, 2017).

Em outro estudo foi avaliado diferentes processos de esterilização final: ciclo de esterilização por calor úmido 121 °C por 10 minutos, calor seco (140 °C por 60 minutos) e filtração esterilizante (filtro de 0,2  $\mu$ m) para nanopartículas de prata incorporadas em hidrogel termossensível de Pluronic F127. Como resultados observaram que a esterilização por calor seco reduziu a propriedade de gelificação do polímero, enquanto

a esterilização por calor úmido não alterou essa propriedade; adicionalmente as características nanotecnológicas permaneceram inalteradas após a esterilização. A esterilização por filtração não foi eficaz, visto que a avaliação desse método é difícil dado a viscosidade da formulação, devido à presença do polímero gelificante (RAFAEL *et al.*, 2019).

Até o momento não há relatos na literatura de esterilização de nanocápsulas de Eudragit® RS100, seja por autoclavagem ou outro método, ou da esterilização de hidrogéis termossensíveis contendo nanopartículas poliméricas. Sendo assim, o objetivo do trabalho é desenvolver nanocápsulas poliméricas de Eudragit® RS100 contendo curcumina incorporadas em hidrogel termossensível Poloxamer® 407 e determinar as condições ideais de esterilização final por autoclavagem.



## **4 CAPÍTULO II: ARTIGO CIENTÍFICO**

Esta parte trata das metodologias e resultados utilizados para a elaboração de um manuscrito para publicação, por isso foram suprimidos.

Estão descritos os materiais, equipamentos e metodologias empregados no desenvolvimento de nanopartículas poliméricas estéreis contendo curcumina incorporadas em hidrogel termossensível na avaliação das características nanotecnológicas. Ainda, apresenta metodologias de avaliação da segurança *in vitro*.

Na sequência são apresentados os resultados, nos quais as nanopartículas poliméricas contendo curcumina foram produzidas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado utilizando Eudragit® RS100 (NCC) como polímero estruturante. O perfil granulométrico não foi alterado após o processo de esterilização, bem como após a incorporação do Poloxamer® 407. O tamanho de partícula observado para as nanocápsulas antes e depois da incorporação no hidrogel apresentou-se unimodal na faixa nanométrica de 150 a 300 nm e o potencial zeta positivo de 3 a 6 mV, com pH próximo ao pH da via oftálmica. O teor e a taxa de associação da curcumina foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência a partir de um método previamente validado, teor da nanocápsula antes da esterilização é de 97%. O teor inicial de curcumina foi de 97%, após a esterilização observou-se diminuição no teor, embora a taxa de associação tenha permanecido 100%. A termossensibilidade do hidrogel desenvolvido mostrou-se que o mesmo gelifica em temperaturas próximo a corporal e permanece após gelificado. A formulação final foi avaliada quanto sua esterilidade por meio de avaliação microbiológica e o potencial de irritação por HET-CAM, além da determinação da temperatura de transição sol-gel. A esterilização a 134 °C por 10 minutos mostrou-se eficaz visto que não foi observado crescimento microbiano nos meios Agar Sangue e meio Sabouraud e não houve alteração nas características nanotecnológicas tampouco das propriedades termossensíveis. Através da microscopia eletrônica de varredura não se observou alteração na morfologia das nanocápsulas. Adicionalmente, não foi observado alterações vasculares (hemorragia, vasoconstricção ou coagulação) em ovos embrionados após avaliação das nanocápsulas e dos hidrogéis mostrado que os mesmos não possuem potencial de irritação. Ainda, a faixa da temperatura de transição SOL-GEL foi entre 25 a 35 °C antes e depois da esterilização.

Os resultados indicaram se tratar de uma formulação nanotecnológica termossensível promissora para aplicação ocular.

## **5 CONCLUSÕES**

As nanocápsulas contendo curcumina com osmolaridade adequada para via ocular que foram produzidas demonstraram-se de acordo com as características de controle de qualidade esperadas para formulações nanotecnológicas, como distribuição homogênea de diâmetro na faixa nanométrica e morfologia esférica. As características permaneceram após a esterilização independentemente do ciclo de esterilização 121 °C por 15 minutos e 134 °C por 10 minutos.

Após a incorporação do polímero Poloxamer® 407 para a produção dos hidrogéis termossensíveis, as características físico-químicas das nanocápsulas foram mantidas, mesmo após a esterilização a 134 °C por 10 minutos. As características de transição sol-gel mostraram-se adequadas para aplicação oftálmica. Os resultados referentes aos hidrogéis produzidos demonstraram sua termorreversão em temperatura abaixo da temperatura corporal.

O ciclo de esterilização 134 °C por 10 minutos demonstrou, por meio de avaliações microbiológicas, ser eficaz para a esterilização final da formulação e, adicionalmente, os hidrogéis apresentaram-se como formulações não irritantes.

Observa-se a importância de se associar duas diferentes tecnologias (nanoencapsulação e desenvolvimento de hidrogel termossensível) para se obter uma formulação final estéril com características desejadas para o tratamento de doenças da via ocular com aplicação local.



## **6 PERSPECTIVAS**

- Avaliação da liberação de curcumina nanoencapsulada em hidrogel termossensível comparando formulações estéreis e não estéreis;
- Avaliação da segurança do uso da formulação final em linhagem de células oculares;
- Avaliação da estabilidade da formulação em função do potencial zeta.



## REFERÊNCIAS

- AGARWAL, P.; CRAIG, J. P.; RUPENTHAL, I. D. Formulation considerations for the management of dry eye disease. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 207, 2021.
- ALMEIDA, H. *et al.* In situ gelling systems: a strategy to improve the bioavailability of ophthalmic pharmaceutical formulations. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 4, p. 400-412, 2014.
- ANJANA, D. *et al.* Development of curcumin based ophthalmic formulation. **American Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p. 41, 2012.
- ASFOUR, M. H *et al.* Chitosan/ $\beta$ -glycerophosphate in situ forming thermo-sensitive hydrogel for improved ocular delivery of moxifloxacin hydrochloride. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 167, p. 106041, 2021.
- BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 4567-4598, 2011.
- BERNAL-CHÁVEZ, S. A. *et al.* Insights into terminal sterilization processes of nanoparticles for biomedical applications. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 2068, 2021.
- BICAS, H. E. A. *et al.* Conjuntivites. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 55, p. 196-205, 1992.
- CARLI, C. B. de A. Atividade antiinflamatória e antitumoral da fração terpenoídica e de  $\beta$ -sitosterol obtidos de qualea multiflora. 2009.
- CHEN, M. *et al.* Curcumin protects against hyperosmoticity-induced IL-1 $\beta$  elevation in human corneal epithelial cell via MAPK pathways. **Experimental Eye Research**, v. 90, n. 3, p. 437-443, 2010.
- CI, L. *et al.* Amino-functionalized poloxamer 407 with both mucoadhesive and thermosensitive properties: preparation, characterization and application in a vaginal drug delivery system. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 7, n. 5, p. 593-602, 2017.
- CORADINI, K. *et al.* Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their *in vitro* antioxidant effects. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 88, n. 1, p. 178-185, 2014.
- COSTA, P. I. C. C.-R. 2014. **O Açafrão das Índias e as suas propriedades antitumorais**. Tese (Doutorado). Universidade de Coimbra, 2014.

CREWE, C. *et al.* The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 1, p. 74-82, 2017.

FERREIRA, S. B. de S. *et al.* Design of a nanostructured mucoadhesive system containing curcumin for buccal application: from physicochemical to biological aspects. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 10, n. 1, p. 2304-2328, 2019.

DOMINGUES, G. S. **Caracterização físico-química e avaliação dos perfis de liberação *in vitro* de micropartículas revestidas com nanocápsulas poliméricas.** 2006.

BRASIL, Farmacopéia Brasileira, volume 1. 5. Ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

FERGUSON, J. J. A.; ABBOTT, K. A.; GARG, M. L. Anti-inflammatory effects of oral supplementation with curcumin: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition Reviews**, v. 79, n. 9, p. 1043-1066, 2021.

GARAVAGLIA, J. *et al.* Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. **Nutrition and Metabolic Insights**, v. 9, p. NMI. S32910, 2016.

GHOLIZADEH, S. *et al.* Advanced nanodelivery platforms for topical ophthalmic drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 6, p. 1437-1449, 2021.

GIULIANO, E. *et al.* Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: An overview. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, p. 159, 2018.

GONZALEZ, J. R. *et al.* Comparison of the stability, efficacy, and adverse effect profile of the innovator 0.005% latanoprost ophthalmic solution and a novel cyclodextrin-containing formulation. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, n. 1, p. 121-126, 2007.

GRASSO, E. da C.; AOYAMA, E. M; FURLAN, M. R. Ação Antiinflamatória de *Curcuma longa* L.(zingiberaceae). Revista Eletrônica Thesis, São Paulo, v. 14, n. 28, p. 117-129, 2017.

GUPTA, S. C. *et al.* Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 39, n. 3, p. 283-299, 2012.

HAN, Y. *et al.* Curcumin attenuates migration of vascular smooth muscle cells via inhibiting NFκB-mediated NLRP3 expression in spontaneously hypertensive rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 72, p. 108-212, 2019.

HE, Yan *et al.* Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked?. *Molecules*, v. 20, n. 5, p. 9183-9213, 2015.

HONKILA, M. *et al.* Effect of Topical Antibiotics on Duration of Acute Infective Conjunctivitis in Children: A Randomized Clinical Trial and a Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*, v. 5, n. 10, p. e2234459-e2234459, 2022.

KOETTING, Michael C. *et al.* Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, v. 93, p. 1-49, 2015.

LIMA FILHO, A. A. S. *et al.* **Fisiologia da retina e das vias ópticas**. Conselho Brasileiro de Oftalmologia. Bases da oftalmologia. São Paulo: Cultura Médica, p. 627-794, 2008.

LIMBERG, M. B. A review of bacterial keratitis and bacterial conjunctivitis. *American Journal of Ophthalmology*, v. 112, n. 4 Suppl, p. 2S-9S, 1991.

LORENZI, H.; MATOS, F.J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MANDAL, M.; JAISWAL, P.; MISHRA, A. Role of curcumin and its nanoformulations in neurotherapeutics: A comprehensive review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, v. 34, n. 6, p. e22478, 2020.

MARBACK, P. M. F. *et al.* Aspectos clínicos e epidemiológicos da conjuntivite alérgica em serviço de referência. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, v. 70, p. 312-316, 2007.

ORTEGA, A. *et al.* Thermosensitive and mucoadhesive hydrogel containing curcumin-loaded lipid-core nanocapsules coated with chitosan for the treatment of oral squamous cell carcinoma. *Drug Delivery and Translational Research*, p. 1-16, 2022.

PAESE, K. *et al.* Production of isotonic, sterile, and kinetically stable lipid-core nanocapsules for injectable administration. *AAPS PharmSciTech*, v. 18, n. 1, p. 212-223, 2017.

PATEL, A. *et al.* Ocular drug delivery systems: An overview. *World Journal of Pharmacology*, v. 2, n. 2, p. 47, 2013.

PATEL, N. *et al.* Ocular involvement in atopic disease: a review. *Current Opinion in Ophthalmology*, v. 29, n. 6, p. 576-581, 2018.

PAWAR, P.; DUDUSKAR, A.; WAYDANDE, S. Design and Evaluation of Eudragit RS-100 Based Itraconazole Nanosuspension for Ophthalmic Application. *Current*

**Drug Research Reviews Formerly: Current Drug Abuse Reviews**, v. 13, n. 1, p. 36-48, 2021.

PEARCE, E. I. *et al.* Effect of blink frequency on tear turnover rate. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 52, n. 14, p. 3726-3726, 2011.

PESCOSOLIDO, N. *et al.* Curcumin: therapeutical potential in ophthalmology. **Planta Medica**, v. 80, n. 4, p. 249-254, 2014.

PIGNATELLO, R. *et al.* Eudragit RS100® nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 1-2, p. 53-61, 2002a.

PIGNATELLO, R. *et al.* Flurbiprofen-loaded acrylate polymer nanosuspensions for ophthalmic application. **Biomaterials**, v. 23, n. 15, p. 3247-3255, 2002b.

POHLMANN, A. R. *et al.* Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microcapsules and nanocapsules in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 10, n. 5, p. 623-638, 2013.

RAFAEL, D. *et al.* Sterilization procedure for temperature-sensitive hydrogels loaded with silver nanoparticles for clinical applications. **Nanomaterials**, v. 9, n. 3, p. 380, 2019.

RENÇBER, S. *et al.* Mucoadhesive in situ gel formulation for vaginal delivery of clotrimazole: formulation, preparation, and *in vitro*/*in vivo* evaluation. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 22, n. 4, p. 551-561, 2017.

SAFAR, L. G. **Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos não estéreis**. 2012.

SCHOENWALD, Ronald D. Ocular drug delivery. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 18, n. 4, p. 255-269, 1990.

SCHOPF, L. R. *et al.* Topical ocular drug delivery to the back of the eye by mucus-penetrating particles. **Translational Vision Science & Technology**, v. 4, n. 3, p. 11-11, 2015.

SHISHODIA, Shishir. Molecular mechanisms of curcumin action: gene expression. **Biofactors**, v. 39, n. 1, p. 37-55, 2013.

SOLIMAN, K. A. *et al.* Poloxamer-based in situ gelling thermoresponsive systems for ocular drug delivery applications. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 8, p. 1575-1586, 2019.

STEINERT, R. F. Current therapy for bacterial keratitis and bacterial conjunctivitis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 112, n. 4, p. 10S-14 1991.

SUSANA, Marta Caldeira. 2018. **Curcumina**: propriedades biológicas e aplicações terapêuticas. 2018. Tese (Doutorado).

VETTEN, M. A. *et al.* Challenges facing sterilization and depyrogenation of nanoparticles: Effects on structural stability and biomedical applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 10, n. 7, p. 1391-1399, 2014.

VILLEGAS, B. V.; BENITEZ-DEL-CASTILLO, J. M. Current knowledge in allergic conjunctivitis. **Turkish Journal of Ophthalmology**, v. 51, n. 1, p. 45, 2021.

ZHANG, W. *et al.* Nanostructured lipid carrier surface modified with Eudragit RS 100 and its potential ophthalmic functions. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 4305, 2014.

ZHEN, L. *et al.* Curcumin inhibits oral squamous cell carcinoma proliferation and invasion via EGFR signaling pathways. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 10, p. 6438, 2014.