

Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da incorporação do fármaco

M. C. Silva*, T. B. Fideles, M. V. L. Fook¹

Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Campina Grande
*Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, Campina Grande – PB, CEP 58109-970

(Recebido em 28/08/2014; revisado em 30/09/2014; aceito em 18/10/2014)
(Todas as informações contidas neste artigo são de responsabilidade dos autores)

Resumo:

A curcumina (*Curcuma longa*) é um fármaco natural que apresenta propriedades interessantes dentre elas anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, melhora a cicatrização e principalmente anticancerígenas. A curcumina tem sido estudada associada com a quitosana que é um polímero natural com características como; alta hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, bioadesão, permeabilidade e não toxicidade, com a função de portador eficaz para a preparação de formulações com o fármaco. Diante do exposto este trabalho teve como objetivo obter esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica e observar a influência da incorporação do fármaco nas esferas de quitosana, por meio das técnicas de Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raio X (DRX). A partir dos resultados de MO e MEV verificou-se que a presença da curcumina ocasionou um aumento no diâmetro das esferas. As amostras de quitosana/curcumina obtiveram uma menor cristalinidade quando comparadas com o fármaco puro.

Palavras-chave: Curcumina; quitosana; esferas; gelificação ionotrópica.

Abstract:

Curcumin (*Curcuma longa*) is a natural drug, with interesting properties among them, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidants, enhances the healing and particularly anticancer. This research curcumin has been studied associated with that chitosan is a natural polymer of attractive features such as; bioadhesion, biocompatibility, high hydrophilicity, permeation and non-toxicity. Given the above this study aimed to obtain beads of chitosan and chitosan/curcumin by gelation ionotropic method and their morphology observed by means of techniques Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-Ray Diffraction (XRD). From the results of OM and SEM it was found that the presence of curcumin resulted in spheres of sizes more regular and homogeneous, but there was an increase in diameter. The samples of chitosan/curcumin presented a lower crystallinity as compared with the pure drug sample.

Keywords: Curcumin; chitosan; spheres; gelation ionotropic.

1. Introdução

A molécula de quitosana é um copolímero composto por N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose (Figura 1), onde os dois tipos de unidades de repetição estão ligadas por (1→4)-β-glicosídica, estas unidades estão distribuídas em diferentes graus, dependendo do grau das porções acetiladas. A cadeia polimérica da quitosana é do tipo ramificada e para determinadas aplicações ela tem sido reticulada por agentes reticulantes como; ácido sulfúrico, glutaraldeído, tripolifosfato, entre outros. Assim como a maioria dos polissacarídeos e proteínas, a quitosana é um termoplástico, pois são constituídos de cadeias poliméricas individuais que são mantidas juntas por ligações relativamente fracas, como ligações dipolo-dipolo e forças de Van der Waals, podendo

ser processada por técnicas usuais, ser dissolvida em solventes, formar filmes e outros dispositivos [1-7].

Este biopolímero tem sido pesquisado em várias aplicações, podendo ser encontrada em várias formas no que se refere ao peso molecular médio e grau de desacetilação. Esta diversidade morfológica/estrutural é aumentada exponencialmente pela fácil modificação química da quitosana, que permite sua otimização para diversas aplicações [8-11].

Na área farmacêutica, no contexto de liberação de fármacos, a quitosana tem sido utilizada como um transportador potencial para administração prolongada de fármacos específicos e macromoléculas, e em formulações de administração oral, nasal, transdérmica e tópica, e na obtenção de nanopartículas para veiculação de proteínas, vacinas e DNA. A quitosana pode ser obtida na forma de géis, membranas, nanofibras, micropartículas, nanopartículas,

*Email: milecost@hotmail.com (M. C. Silva)

scaffolds e esponjas, as micro/nanopartículas à base de quitosana são amplamente utilizados na concepção de sistemas terapêuticos e tem sido utilizadas com sucesso em vários fármacos como por exemplo: amoxicilina e tetracilina [11-16].

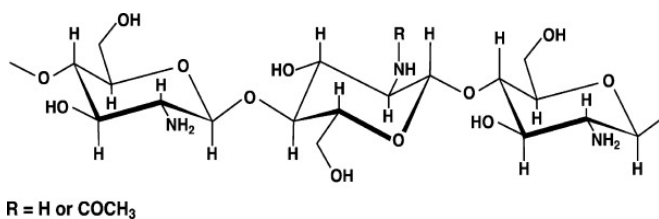


Figura 1. Estrutura da quitosana (Fonte: [7])

O uso de fármacos carregados em esferas, microesferas e nanoesferas permitem a sua liberação no lugar específico do tratamento, através de fatores-chave, que podem ser manipulados para atingir o desejado perfil de liberação, como: a escolha da formulação de várias combinações do fármaco/polímero, a quantidade do fármaco, a cinética de liberação, o método de microencapsulação, o peso molecular do polímero, a morfologia da partícula (tamanho e forma) e etc.

As esferas de polímero biodegradável permitem que o fármaco encapsulado seja liberado de maneira controlada, mantendo uma concentração terapêutica constante nos fluidos corporais ao longo de um período desejável (horas ou dias) desde o momento da administração [12,18].

Diferentes métodos têm sido utilizados para preparar partículas de quitosana dentre elas tem-se: a separação de fase (coacervação), técnica de evaporação/extração de solventes, a técnica emulsão cross-linking, secagem por pulverização e geleificação ionotrópica. Na técnica de geleificação iônica (Figura 2), a quitosana é dissolvida numa solução ácida aquosa tornando-o a quitosana solúvel, esta solução é então desprendida da agulha, gota a gota, e ficam dispersas numa solução coagulante, sob agitação constante. A reação entre as espécies de carga oposta, faz com que a quitosana se submeta a geleificação iônica e precipitando na forma de partículas esféricas [6].

Por outro lado, a curcumina, componente polifenólico da *Curcuma longa*, vem sendo utilizado juntamente com a quitosana. A *Curcuma* é normalmente utilizada na preparação da mostarda e do curry, sendo uma especiaria de cor amarela, muito utilizada em medicamentos asiáticos para o tratamento de acne, psoríase, dermatite e assaduras. Também há indicações de sua atuação anticâncer, sendo considerada como uma alternativa adequada para os agentes quimioterápicos. As suas propriedades medicinais são atribuídas principalmente aos três curcuminóides, (a curcumina, a demetoxicurcumina e bis-demetoxicurcumina), presentes do rizoma *Curcuma longa*, sendo o principal a curcumina [20-23].

A curcumina apresenta propriedades bem satisfatórias sendo antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana, antiparasitários, antimalárica e atividades anticancerígenas. A atividade anticancerígena da curcumina tem sido sugerida

como um agente terapêutico para a prevenção e tratamento de uma grande variedade de diferentes tipos de câncer incluindo câncer de mama, câncer oral, câncer de esôfago, linfoma, câncer gástrico, câncer de colo uterino, câncer intestinal, mieloma múltiplo, câncer hepático, câncer de pâncreas, leucemia, câncer colo retal, câncer de bexiga, melanoma, câncer de rim, câncer de ovário, câncer de próstata, sarcoma, câncer do timo, câncer uterino, câncer de pele, câncer neurológico, câncer ósseo, câncer no cérebro e cabeça e carcinoma de células escamosas pescoço [23-26].

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência da introdução do fármaco (curcumina), nas esferas de quitosana, obtidas pela técnica de geleificação ionotrópica.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Foi utilizado quitosana em pó, de médio peso molecular, adquirido pela Sigma-Aldrich, com grau de desacetilação entre 75 – 85%; Curcumina Longa, adquirido pela Sigma-Aldrich; Sulfato de Sódio; Ácido Acético Glacial, P.A. (C₂H₄O₂), peso molecular 60.05 g/mol; Etanol Glacial, e Tampão de Fosfato Salino (PBS), adquirido pela Sigma-Aldrich.

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação das esferas

A solução de quitosana (2%) foi preparada por meio da dissolução do polímero na forma de pó com uma solução de ácido acético (1%) sobre agitação mecânica constante por 24 horas. Em seguida o pó de curcumina, foi dissolvido em etanol (10mg/mL), com agitação mecânica por 3 horas. Em seguida, a solução de curcumina foi incorporada à solução de quitosana, (com concentração de 5mL de quitosana por mL de curcumina), sob agitação até se obter a homogeneidade do sistema. A partir disto esferas foram obtidas utilizando-se o método de geleificação ionotrópica, por meio de uma seringa de 5 mL acoplada com uma agulha de dimensões 0,45mm x 13mm (26G x ½”) (Figura 2). O gotejamento ocorreu em uma solução coagulante de sulfato de sódio (5%*m/v*). Em seguida as esferas foram neutralizadas com uma solução de PBS. Após esta etapa as partículas foram congeladas a aproximadamente -20°C e liofilizadas por 48 horas.

2.2.2. Caracterização

Microscopia Ótica (MO): A técnica de MO, foi realizada em um Microscópio Óptico Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D e variação de 50X-400X, acoplado a uma estação de Análise de Imagens.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): Para realização das análises foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo TM-1000, marca Hitachi, com aumento de 10000x, profundidade de foco de 1 mm,

resolução de 30 nm, 15 KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa), sem recobrimento metálico.

Para análise da Energia Dispersiva de Raios X (EDS), utilizou-se o equipamento acoplado ao MEV para uma maior confiabilidade dos resultados, no qual os elementos químicos presente numa amostra são identificados através do espectro de raios X emitidos pela amostra.

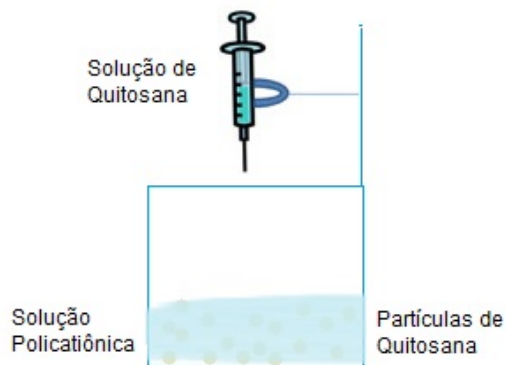


Figura 2. Representação esquemática da preparação de sistemas de partículas de quitosana pelo método de gelificação ionotrópica (Fonte: adaptado de [6])

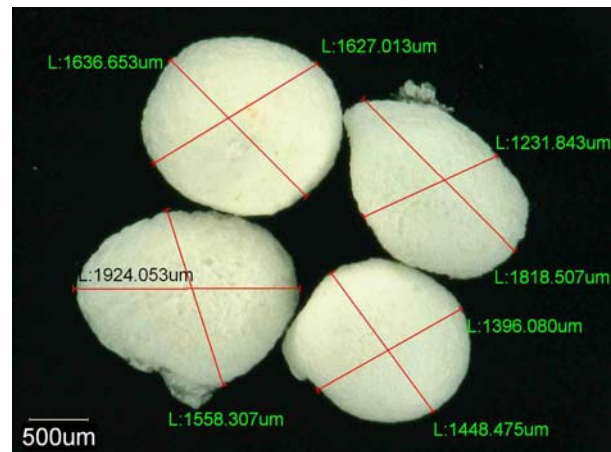
Difração de Raio X (DRX). A análise foi realizada em um difratômetro SHIMADZU, (modelo XRD 7000) com varredura angular $5^\circ < 2\theta < 80^\circ$, na montagem de Bragg-Brentano, sistema θ - 2θ , utilizando-se radiação de Cu-Kalfa ($\lambda = 1,54$) com varredura no passo de 0,02 (2θ), com intervalo de 0,5 segundo para cada amostra.

3. Resultados e Discussão

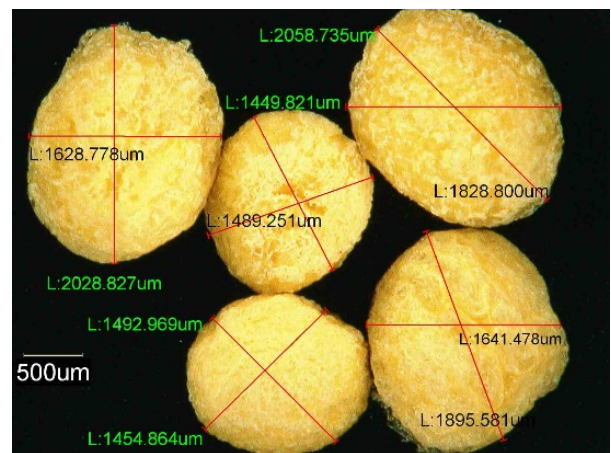
As Figuras 3 (a) e (b) apresentam análises das esferas de quitosana e quitosana/curcumina que foram obtidas a partir do método de gelificação ionotrópica, e as Figuras 4 (a) e (b) apresentam a imagem da seção transversal das esferas.

Na Figura 3 (b), é possível observar que as esferas com o fármaco incorporado apresentam uma maior rugosidade superficial do que as esferas de quitosana (Figura 3 (a)). Verifica-se também que a inclusão do fármaco (curcumina) ocasionou, um aumento no diâmetro das partículas. Porém se considerado o desvio, os tamanhos das esferas são praticamente iguais. Sendo o diâmetro médio de $1592,66 \pm 171 \mu\text{m}$ para as esferas de quitosana e de $1635,128 \pm 204,86 \mu\text{m}$ para as esferas de quitosana/curcumina. Esses diâmetros foram verificados a partir do software acoplado ao Microscópio Óptico.

Morais et al. 2008 [27], obteve esferas de quitosana produzidas pelo método de gelificação ionotrópica com diâmetro médio de 2000-3000 μm , utilizando uma agulha hipodérmica ($0,7 \times 25 \text{ mm}^2$), onde as gotículas formadas foram coletadas em uma solução de NaOH (10%) e sem seguidas reticuladas com glutaraldeído.



(a)



(b)

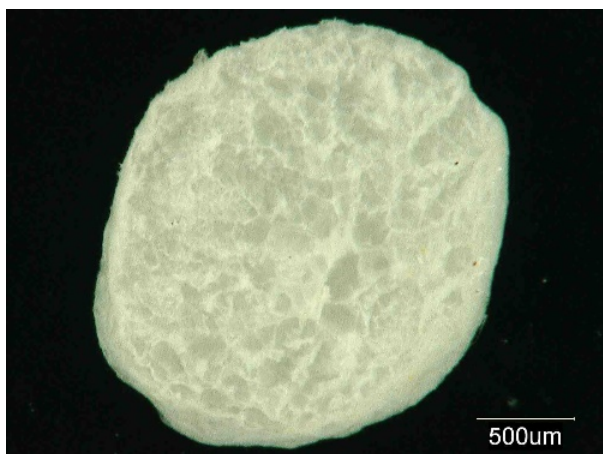
Figura 3. Imagens obtidas por microscopia óptica das esferas de quitosana aumento de 60x (a) e quitosana/curcumina aumento de 60x (b)

Análogo aos resultados obtidos neste trabalho, Santos et al. 2003 [28], em seu trabalho incorporou o fármaco (insulina) em esferas de quitosana, e observou um aumento no diâmetro das esferas com a insulina.

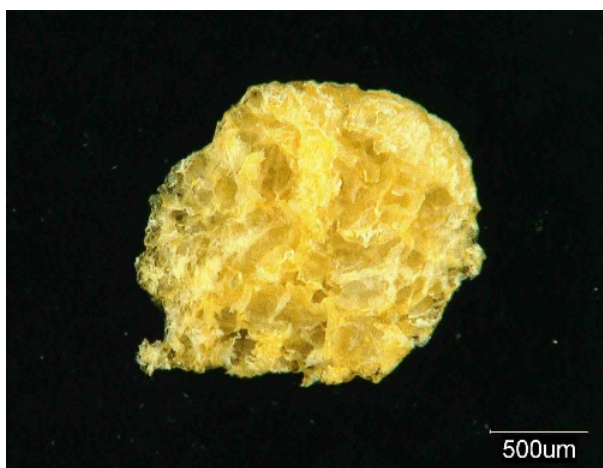
De acordo com Bitencourt 2013 [29], a incorporação de substâncias ativas pode influenciar na estrutura superficial e interna dos materiais devido a diversos fatores como, tamanho, peso molecular, as interações com a matriz polimérica, dentre outros.

Imagens do corte da seção transversal (Figura 4) de uma esfera foi obtida para as amostras de quitosana (Figura 4 (a)) e quitosana/curcumina (Figura 4 (b)), onde verificou-se poros internos de maior dimensão para as amostras de quitosana/curcumina, porém os poros mais homogêneos e menores foram vistos na amostra de quitosana.

De acordo com Anandharamakrishnan et al. 2010 [29], durante a liofilização, estruturas porosas são obtidas pela formação dos cristais de gelo durante a fase de congelamento que sublima durante a secagem.



(a)



(b)

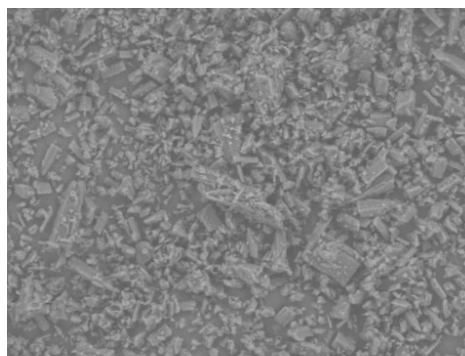
Figura 4. Imagens obtidas por microscopia óptica da seção transversal das esferas de quitosana aumento de 100x (a) e quitosana/curcumina aumento de 100x (b)

A morfologia do pó de curcumina foi observada por Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 5), onde foi possível verificar uma estrutura retangular de tamanhos variados, com bordas irregulares. Também observa-se a presença de aglomerados de partículas de tamanhos menores, conforme relatado por [30-32]. Na Figura 6 tem-se a micrografia das esferas de quitosana e quitosana/curcumina obtidas pelo método de gelificação ionotrópica, onde a partir desta técnica é possível obter partículas esféricas. A partir da análise do EDS para ambas amostras (Figura 7 e 8) foi possível identificar a presença do Sulfato de Sódio, pela presença de enxofre (S) e sódio (Na).

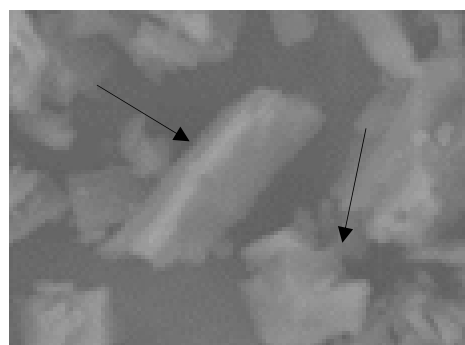
Estudos de DRX foram realizadas para a quitosana e a curcumina na forma de pó, e para as esferas de quitosana e quitosana/curcumina, a fim de compreender a influência da curcumina na quitosana.

O difratograma da quitosana pura (Figura 9 (a)), apresenta dois picos característicos de polímeros semicristalinos, sendo um em torno de $12,8^\circ$ e outro por volta de $21,0^\circ$, que evidenciam a parte cristalina do material.

Segundo Vieira et al., 2014 [33], estes picos correspondem aos planos de difração (020) e (110), respectivamente. Verifica-se também uma ampla faixa abaixo dos picos, variando de aproximadamente 8 a 35° , onde predomina a fase amorfa do material. Observa-se ainda picos de menor intensidade em $9,83^\circ$; $10,58^\circ$; $19,78^\circ$; $22,45^\circ$ e $27,71^\circ$ que de acordo com Yin et al. 2004 [34], são característicos de regiões cristalinas.



(a)



(b)

Figura 5. Micrografias do pó da curcumina. (a) Aumento de 100x e (b) Aumento de 10000X

Segundo Oliveira 2011 [35], a quitosana possui um perfil semicristalino devido às fortes interações intra e intermolecular, caracterizado pelas pontes de hidrogênio formadas entre os grupamentos amino, hidroxila, amida e outros grupos funcionais presentes na molécula de quitosana, fornecendo certa organização à estrutura cristalina da quitosana.

As esferas de quitosana (Figura 9 (b)), mostraram um padrão semelhante ao difratograma da quitosana pura, porém observa-se a intensificação dos picos $19,10^\circ$; $23,46^\circ$; $32,21^\circ$; $33,83^\circ$ e o aparecimento de outros picos em $28,02^\circ$ e $48,72^\circ$, provavelmente característicos do sulfato de sódio utilizado como solução coagulante, durante a produção da amostra. Isto provavelmente ocorreu devido à uma maior organização das cadeias de quitosana, conferida pela reação de reticulação, ou pela orientação dos planos cristalinos durante o processo de formação da esfera. Holanda et al. 2011 [36], obteve em sua pesquisa, membranas de quitosana contendo tripolifosfato, onde observou-se um discreto aumento na cristalinidade,

atribuído à cristalinidade do sal (tripolifosfato), quando comparada com a quitosana pura. O tripolifosfato funciona como agente reticulante iônico e as reticulações iônicas são caracterizadas por produzir ligações reversíveis. É possível observar pelo difratograma da curcumina pura (Figura 9 (c)) dois picos estreitos de maior intensidade e bem definidos em $2\theta = 8,95^\circ$ e $17,26^\circ$, indicando que a curcumina em pó

encontra-se numa forma semicristalina. De acordo com Kumar et al. 2014 [37], os picos característicos da curcumina são observados no intervalo de $10-30^\circ$, onde verifica-se uma série de picos nos ângulos $7,84^\circ$, $12,12^\circ$, $14,45^\circ$, $18,12^\circ$, $21,27^\circ$, $23,36^\circ$, $24,51^\circ$, $25,65^\circ$, $26,73^\circ$, $28,23^\circ$, $28,9^\circ$. Conforme também observado por [38-43].

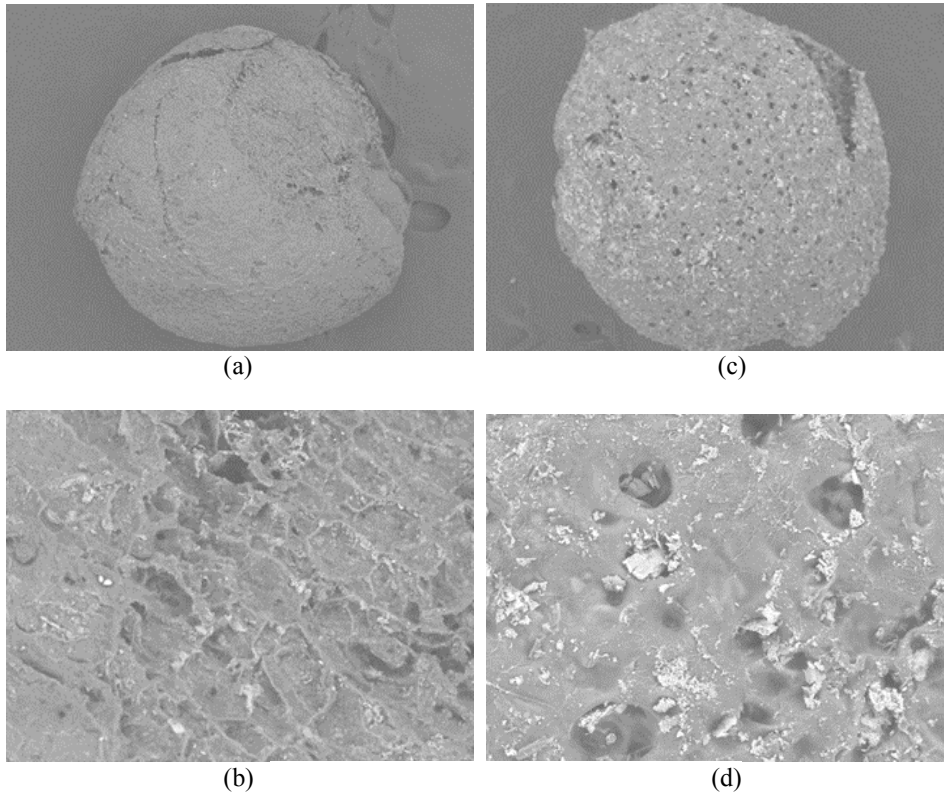


Figura 6. Micrografias (a) da esfera de quitosana (aumento de 120x), (b) superfície da esfera de quitosana (aumento de 1000X), (c) da esfera de quitosana/curcumina (aumento de 120x) e (d) superfície da esfera de quitosana/curcumina (aumento de 1000X)

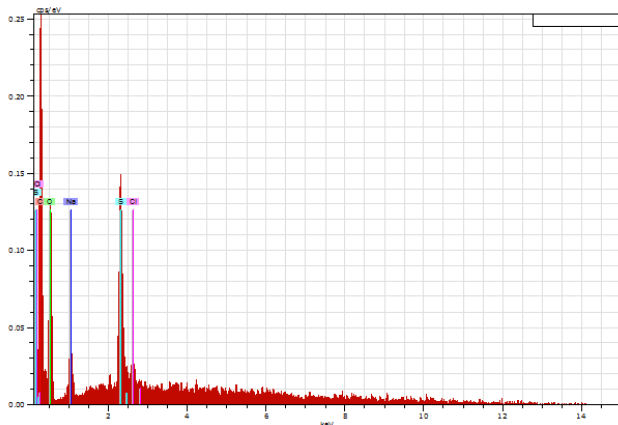


Figura 7. Análise do EDS da esfera de quitosana

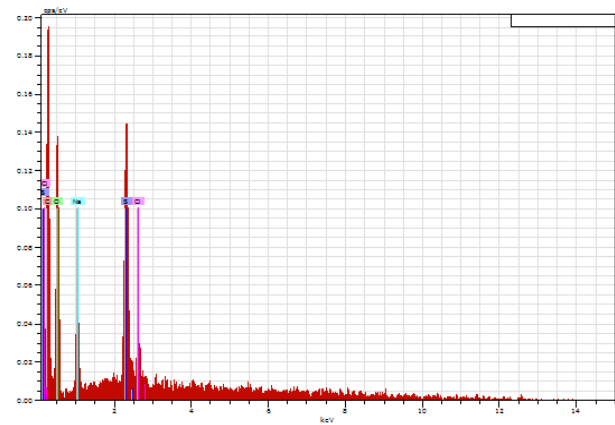


Figura 8. Análise do EDS da esfera de quitosana/curcumina.

A Figura 9 (d) apresenta o difratograma da esfera de quitosana/curcumina. Onde verifica-se a permanência das bandas entre $2\theta = 10^\circ$ a $2\theta = 35^\circ$, relativa a quitosana, observa-se também o pico característico da curcumina em $17,26^\circ$, porém com intensidade bem reduzida quando comparado com o difratograma da curcumina pura. Outros picos da curcumina também foram visualizados em $12,12^\circ$; $14,45^\circ$ e $28,9^\circ$. Verifica-se também a presença dos picos $19,1^\circ$; $28,02^\circ$ e $32,21^\circ$ também apresentado no difratograma do arcabouço de quitosana, provavelmente estes picos são pertencentes ao sulfato de sódio, reticulante utilizado nas amostras.

Portanto observa-se que a presença do fármaco na quitosana, não ocasionou de forma significativa o aumento da cristalinidade do material, pois no difratograma da amostra quitosana/curcumina, os picos característicos da curcumina não estão presentes em intensidade considerável, logo indica-se uma provável obtenção de uma estrutura amorfa. Segundo Song et al. 2011 [44], isto sugere que a curcumina foi dispersa molecularmente na quitosana. De acordo com Song et al. 2014 [43], isto é benéfico para a difusão de moléculas do fármaco através da matriz polimérica, o que leva a uma liberação controlada do fármaco encapsulado.

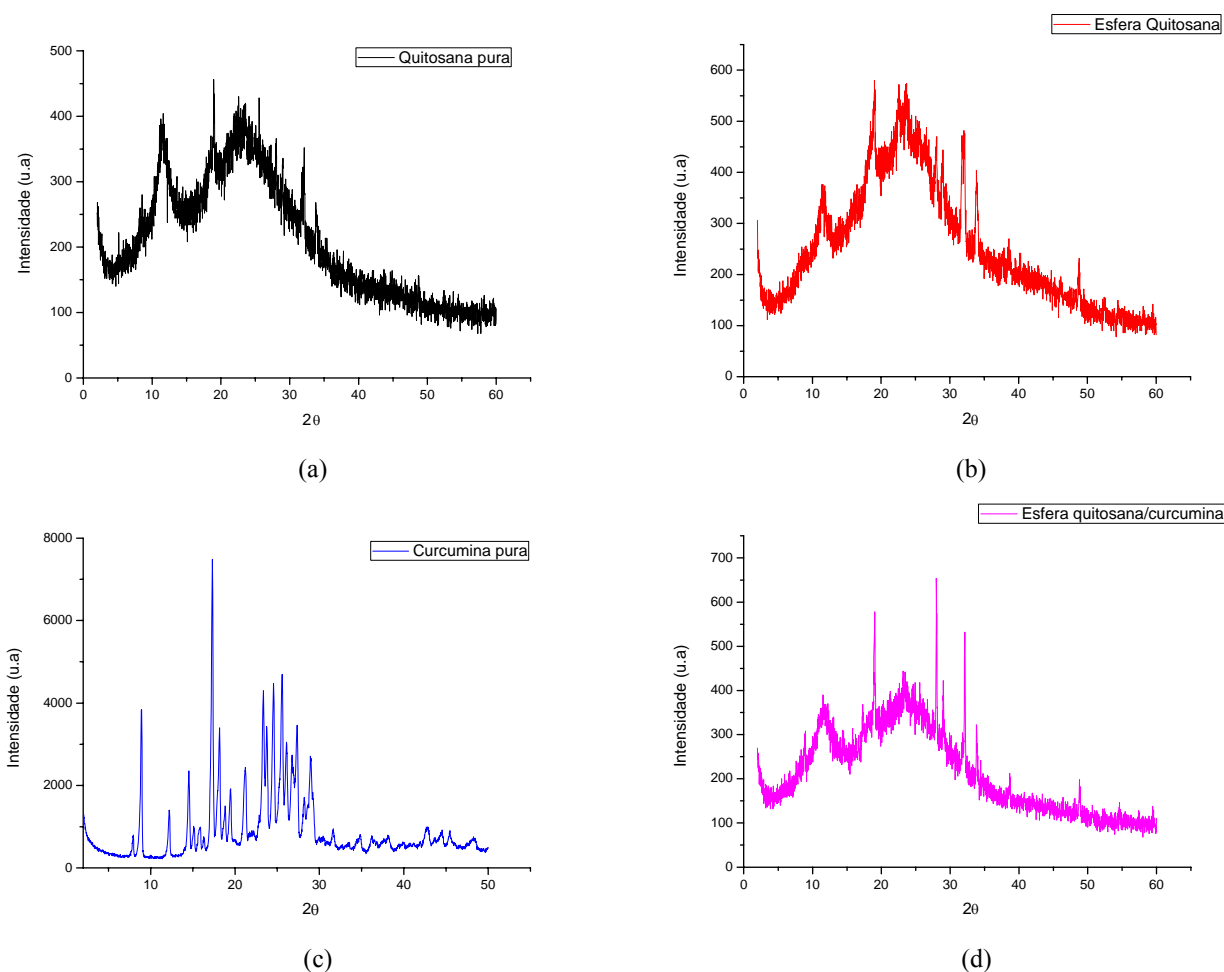


Figura 9. Difratograma da quitosana pura (a), esferas quitosana (b), curcumina pura (c) e esferas quitosana/curcumina (d)

4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que o diâmetro das esferas com a curcumina é semelhante à das esferas de quitosana. A superfície das esferas de quitosana/curcumina apresenta pequenos poros, e na estrutura interna de ambas amostras observa-se uma estrutura porosa. Por EDS observou-se a presença do sulfato de sódio nas amostras, pela presença do enxofre e do sódio. A presença da

curcumina afetou a cristalinidade da quitosana, indicando a provável obtenção de uma estrutura amorfa.

Agradecimentos

Os autores agradecem, ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES, Hospital Samaritano de São Paulo e ao Ministério da Saúde do Brasil

Referências

- [1] Fidéles, T. B. Filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial [Dissertação]. Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande; 2010.
- [2] Laus, R., Laranjeira, M. C. M., Martins, A. O., Fávère, V. T., Pedrosa, R. C., Benassi, J. C., Geremias, R. Microesferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato utilizadas para remoção da acidez, ferro(III) e manganês(II) de águas contaminadas pela mineração de carvão. *Química Nova*, 29, 34-39, 2006.
- [3] Piai, J. F. Preparação e caracterização de complexos Polieletrólitos de Quitosana/Sulfato de condroitina e estudos de liberação controlada [Dissertação]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2008.
- [4] Torres, M. C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana natural e modificada quimicamente e o seu uso na adsorção das proteínas BSA e Iosozima [Tese de doutorado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006.
- [5] Jayakumar, R., Prabakaran, M., Kumar, P.T. S., Nair, S.V., Tamura, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*, 29 (3), 322–337, 2011.
- [6] Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., Chiellini, E. Progress in Polymer Science. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Special Issue on Biomaterials*. 36 (8), 981–1014, 2011.
- [7] Mukhopadhyay, P, Mishra, R., Rana, D., Kundu, P. P. Strategies for effective oral insulin delivery with modified chitosan nanoparticles: A review. *Progress in polymer science*, 37 (11), 1457 -1475, 2012.
- [8] Gnani, S., Barwig, C., Freier, T., Haastert-Talini, K., Grothe, C., Geuna, S. Chapter one – the use of chitosan-based scaffolds to enhance regeneration in the nervous system. *International Review of Neurobiology*, 109, 1–62, 2013.
- [9] Park, H., Choi, B., Hu, J., Min, L. Injectable chitosan hyaluronic acid hydrogels for cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 9 (1), 4779–4786, 2013.
- [10] Thein-Han, W. W, Misra, R. D. K. Biomiméticos scaffolds compósitos de quitosana-nanohydroxyapatite para engenharia de tecido ósseo. *Acta Biomaterialia*, 5 (4), 1182-1197, 2009.
- [11] Kean, T., Thanou, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62 (1), 3–11, 2010.
- [12] Sinha, V.R., Singla, A.K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., Dhawan, S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *Review. International Journal of Pharmaceutics*, 274 (1-2), 1–33, 2004.
- [13] Balan, V., Verestiuc, L. Strategies to improve chitosan hemocompatibility: A review. *European Journal Polymer*, 53, 171-188, 2014.
- [14] Lourenço, V. A. Desenvolvimento e avaliação de micropartículas de quitosana para a veiculação de dimetilaminoetanol (DMAE) na pele [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
- [15] Jayakumar, R., Prabakaran, M., Kumar, P.T. S., Nair, S.V., Tamura, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*. 29 (3), 322–337, 2011.
- [16] Yue, W. Prevention of browning of depolymerized chitosan obtained by gamma irradiation. *Carbohydrate Polymers*, 101.857–863, 2014.
- [17] Lacerda, L., Parize, A. L., Fávère, V., Laranjeira, M. C. M., Stulzer, H. K. Development and evaluation of pH-sensitive sodium alginate/chitosan microparticles containing the antituberculosis drug rifampicin. *Materials Science and Engineering: C*, 39, 161–167. 2014.
- [18] Maheshwari, R. K., Singh, A.K., Gaddipati, J., Srimal, R. C. Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Sciences*, 78 (18), 2081–2087, 2006.
- [19] Das, R. K., Kasoju, N., Bora, U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6, 153–160, 2010.
- [20] Li, Y., Zhang, T. Targeting cancer stem cells by curcumin and clinical applications. *Cancer Letters*, 346 (2), 197-205, 2014.
- [21] Moorthi, C., Kathiresan, K. Curcumin–piperine/curcumin–quercetin/curcumin–silibinin dual drug-loaded nanoparticulate combination therapy: A novel approach to target and treat multidrug-resistant cancers. *Journal of Medical Hypotheses and Ideas*, 7 (1), 15–20, 2013.
- [22] Chuah, L. H., Roberts, C. J., Billa, N., Abdullah, S., Rosli, R. Cellular uptake and anticancer effects of mucoadhesive curcumin-containing chitosan nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 116, 228–236, 2014.
- [23] Yadav, A., Lomash, V., Samim, M., Flora, S. J. Curcumin encapsulated in chitosan nanoparticles: A novel strategy for the treatment of arsenic toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 199. 49–61, 2012.
- [24] Naksuriya, O., Okonogi, S., Schiffelers, R. M., Hennink, W. E. Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials*. 35 (10), 3365–3383, 2014.
- [25] Morais, W. A., Almeida, A. L. P., Pereira, M. R., Fonseca, J. L. C. Equilibrium and kinetic analysis of methyl orange sorption on chitosan spheres. *Carbohydrate Research*, 343 (14), 2489–2493, 2008.
- [26] Santos, J. V., Moura, T. F. A., Raffin, F. N. Otimização dos parâmetros de secagem por aspersão de micropartículas de quitosana como carreadores de insulina. *Latin American Journal of Pharmacy*, 22 (4), 327-33, 2003.
- [27] Bitencourt, C. M. Desenvolvimento e aplicação de filmes á base de gelatina aditivados com extrato

- etanólico de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) [Dissertação]. Pirassununga: Universidade de São Paulo; 2013.
- [28] Anandharamakrishnan, C., Rielly, C. D., Stapley, A. G. F. Spray-freeze-drying of whey proteins at sub-atmospheric pressures. *Dairy Science and Technology*, 90, 321-334, 2010.
- [29] Arun G., Shweta P., Upendra K. J. Formulation and evaluation of ternary solid dispersion of curcumin. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (5), 360-365, 2012.
- [30] Arya, P., Pathak, K. Assessing the viability of microsponges as gastro retentive drug delivery system of curcumin: optimization and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 460 (1–2), 1–12, 2014.
- [31] Sethacheewakul, S., Mahattanadul, S., Phadoongsombut, N., Pichayakorn, W., Wiwattanapatapee, R. Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin, and absorption studies in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76 (3), 475–485, 2010.
- [32] Vieira, E. F. S., Cestaria, A. R., Chagas, R. A., Cortes, G. K. Obtenção e caracterização de matriz apropriada para sistemas de liberação prolongada – estudos de liberação dos herbicidas atrazina e diuron. *Química Nova*, 37 (3), 398-403, 2014.
- [33] Yin, X., Zhang, X., Lin, Q., Feng, Y., Yu, W., Zhang, Q. Metal-coordinating controlled oxidative degradation of chitosan and antioxidant activity of chitosan-metal complex. *Arkivoc*, 9, 66-78, 2004.
- [34] Oliveira, R. A. Síntese e caracterização de compósito quitosana com carbonato de cálcio extraído de casca de ovo para possíveis aplicações como curativo. *Anais do Encontro Nacional de Educação*. Campina Grande: Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande; 2011.
- [35] Holanda, A. L. de. Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização [Tese de doutorado]. Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande; 2011.
- [36] Kumar, S. S. D., Mahesh, A., Mahadevan, S., Mandal, A. B. Synthesis and characterization of curcumin-loaded polymer/lipid based nanoparticles and evaluation of their antitumor effects on MCF-7 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1840 (6), 1913-1922, 2014.
- [37] Mohan, P. R., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C. V. Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: characterization by FT-Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 62, 77-84, 2012.
- [38] Chen, J., Dai, W. T., He, Z. M., Gao, L., Huang, X., Gong, J. M., Xing, H. Y., Chen, W. D. Fabrication and evaluation of curcumin-loaded nanoparticles based on solid lipid as a new type of colloidal drug delivery system. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75 (2), 178-184, 2013.
- [39] Yallapu. M. M., Jaggi M., Chauhan S. C. Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer. *Drug Discovery Today*, 17, 71-80, 2012.
- [40] Anitha, A., Maya, S., Deepa, N., Chennazhi, K.P., Nair, S.V., Tamura, H., Jayakumar, R. Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, 83, 452–461, 2011.
- [41] Donsi, F., Wang, Y., Li, J., Huang, Q. Preparation of curcumin sub-micrometer dispersions by high-pressure homogenization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 2848–2853, 2010.
- [42] Song, Z., Zhu, W., Liu, N., Yang, F., Feng, R. Linolenic acid-modified PEG-PCL micelles for curcumin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 471, 312–321, 2014.
- [43] Song, L., Shen, Y., Hou, J., Lei, L., Guo, S., Qian, C. Polymeric micelles for parenteral delivery of curcumin: preparation, characterization and in vitro evaluation. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 390, 25–32, 2011.
- [44] Vasconcellos, F. C., Goulart, G. A. S., Beppu, M. M. Production and characterization of chitosan microparticles containing papain for controlled release applications. *Powder Technology*, 205, 65–70, 2011.