

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

**Desenvolvimento, caracterização e efeitos biológicos de nanocápsulas poliméricas
contendo ácido lipóico e/ou resveratrol**

Doutorando: Samuel Davies

Orientador: Prof.^a Irene Cledes Kulkamp Guerreiro

Porto Alegre, 2019

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

**Desenvolvimento, caracterização e efeitos biológicos de nanocápsulas poliméricas
contendo ácido lipóico e/ou resveratrol**

Tese apresentada por **Samuel Davies** para a
obtenção do título de doutor em Ciências
Farmacêuticas

Orientador: Prof^a. Dra. Irene Clemes Kulkamp Guerreiro

Porto Alegre, 2019

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Karina Paese
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profª Drª Valquiria Linck Bassani
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profª Drª Patrícia Nardin
Universidade do Vale do Rio dos Sinos

Profª Drª Isabele Cristina Iser
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Prof Dr Alexandre Meneghello Fuentefria (Suplente)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Drª Aline Beckenkamp (Suplente)
Laboratório de Análises Clínicas Carlos Franco Voegeli

CIP - Catalogação na Publicação

Davies, Samuel
Desenvolvimento, caracterização e efeitos
biológicos de nanocápsulas poliméricas contendo ácido
lipóico e/ou resveratrol / Samuel Davies. -- 2019.
181 f.
Orientador: Irene Clemes Kulkamp Guerreiro.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2019.

1. Nanotecnologia. 2. Resveratrol. 3. Ácido
Lipóico. 4. Antioxidante. 5. Leucemia Mieloide
Crônica. I. Clemes Kulkamp Guerreiro, Irene, orient.
II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica aplicada do Departamento de Matérias primas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O autor recebeu bolsa de estudos da CAPES.

À minha família,
pelo amor, confiança, incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Profa. Dra. Irene Cledes Guerrero Kulkamp, pela orientação, empenho, disponibilidade, exigência e, acima de tudo, amizade nesse tempo de convívio. Por acreditar em mim e me mostrar o caminho de um pesquisador.

Aos meus colegas de Laboratório TFAC – Morgana, Helissara, Mariana, Marina e Simone Agradeço todo o apoio, amizade e por tornarem meu caminho até aqui mais alegre.

Aos meus colegas de Laboratório LABC - Aline, Jéssica, Júlia, Débora e Camila. Agradeço todo o apoio, amizade e por tornarem meu caminho até aqui mais alegre.

As minhas colegas Paola e Isabele que pude ter o prazer de dividir um ano de trabalho com cada uma e ter a oportunidade de crescimento pessoal e profissional enorme.

Aos professores Diogo A. Pilger e Renata Contri que colaboraram para o desenvolvimento desta tese, pelas revisões, correções e sugestões, e pelo apoio.

A todos os colaboradores que participaram do desenvolvimento desta tese, muito obrigada pelo auxílio e colaboração.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade.

A minha família Rubino, Claudete e Fernanda, agradeço pela educação, apoio, incentivo, conforto, compreensão e amor.

A Franciele, pelo apoio, amor e compreensão. Por entender a minha ausência em muitos momentos da nossa vida.

RESUMO

O interesse no uso de antioxidantes na prevenção e tratamento de diferentes patologias vem ganhando espaço nos últimos anos, uma vez que a desregulação do estado redox no organismo está associada ao envelhecimento cutâneo e várias doenças, principalmente relacionada à idade. Dois antioxidantes que vêm sendo muito estudados nos últimos anos com finalidade terapêutica são ácido lipoico (LA) e resveratrol (RSV). O LA possui a habilidade direta de sequestrar espécies reativas de oxigênio (ERO) e interagir com outros antioxidantes, já o RSV possui inúmeros efeitos farmacológicos, seja tanto na prevenção de doenças bem como no seu tratamento. A nanotecnologia vem sendo muito utilizada na estabilização de compostos, e como carreador de fármacos ao seu local de ação. Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia de identificação simultânea do RSV e LA em HPLC-UV, conanoencapsular o LA e o RSV em uma nanocápsula de núcleo lipídico e avaliar o potencial antioxidante e a estabilidade frente a radiação UVA da formulação. Objetivou-se ainda avaliar o efeito antiproliferativo do RSV-LNC contra as células K562 de leucemia mielóide crônica (LMC). Foi possível desenvolver um método de identificação e quantificação simultânea do RSV e LA no HPLC-UV. Os antioxidantes foram incorporados em uma nanocápsula de núcleo lipídico. A conanoencapsulação aumentou a atividade antioxidante bem como a estabilidade dos compostos contra a radiação UVA. Ainda, a conanoencapsulação melhorou o controle da liberação e permeação dos antioxidantes, em modelo de pele de cobra. Na avaliação do tratamento com o RSV-LNC de células K562 de LMC sensíveis e resistentes ao imatinibe, o RSV-LNC foi mais eficiente em comparação ao RSV em solução na redução da viabilidade celular. Também, o RSV-LNC em associação com o Imatinibe mostrou ter efeito sinérgico, com potencial para terapia da LMC. Em conclusão, a nanoencapsulação do RSV e do LA melhorou sua atividade antioxidante e estabilidade. Adicionalmente, a nanoencapsulação do RSV demonstrou efeito antiproliferativo em células K562 de LMC, em sinergismo com imatinibe.

Palavras-chave: Resveratrol, Ácido Lipóico, Nanocápsulas, Antioxidantes, Leucemia Mielóide Crônica.

ABSTRACT

The interest in the use of antioxidants in the prevention and treatment of different pathologies has been intensified in the recent years, since deregulation of the redox state in the organism is associated with aging skin and several diseases. Two antioxidants have been studied in recent years with therapeutic purposes are lipoic acid (LA) and resveratrol (RSV). LA has the ability to sequester reactive oxygen species (ROS) and interact with other antioxidants, while RSV has numerous pharmacological effects, in disease prevention or treatment. Nanotechnology has been widely used in stabilizing compounds and drug delivery. This research aimed to develop a methodology for the simultaneous identification of RSV and LA in HPLC-UV, to conanoencapsulate LA and RSV in lipid core nanocapsules, to evaluate the antioxidant potential and stability of the developed formulations under UVA radiation. This study also aimed to evaluate the antiproliferative effects of RSV-LNC against K562 cells from chronic myeloid leukemia (CML). It was possible to develop a method of simultaneous identification and quantification of RSV and LA in HPLC-UV. The antioxidants were incorporated in lipid core nanocapsules. The conanoencapsulation increased the antioxidant activity as well as the stability of the compounds against UVA radiation. Furthermore, conanoencapsulation improved the release and controlled the permeation of the antioxidants, in snake skin model. In the evaluation of treatment of K562 cells from CML sensitive and resistant to imatinib, RSV-LNC was more efficient compared to RSV solution considering cell viability reduction. Also, RSV-LNC in combination with Imatinib presented a synergistic effect, with potential for CML therapy. In conclusion, the nanoencapsulation of RSV and LA improved its antioxidant activity and stability. In addition, the nanoencapsulation of RSV demonstrated antiproliferative effect on K562 CML cells, in synergism with imatinib.

Key words: Resveratrol, Lipoic Acid, Nanocapsules, Antioxidants, Chronic Myeloid Leukemia.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
TEMA E OBJETIVOS.....	21
DELINEAMENTO DO ESTUDO E ESTRUTURA DA QUALIFICAÇÃO.....	25
PARTE I.....	29
INTRODUÇÃO	31
CAPÍTULO I.....	43
CAPÍTULO II	65
PARTE II.....	97
INTRODUÇÃO	99
CAPÍTULO III.....	109
CAPÍTULO IV.....	125
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	149
DISCUSSÃO GERAL.....	150
CONCLUSÕES GERAIS	154
REFERÊNCIAS.....	157
ANEXO A.....	177

A desregulação do estado redox no organismo está associada a várias doenças, principalmente as relacionadas ao envelhecimento (Dreher e Junod, 1996), por exemplo doenças neurodegenerativas (Halliwell, 2001), cardiovasculares (Steinberg *et al.*, 1989), bem como no controle da resposta inflamatória (Crimi *et al.*, 2006). O uso de antioxidantes para o tratamento destas doenças é emergente. Um grupo de antioxidantes que muitas vezes é sugerido em terapias devido ao seu potencial papel na saúde são os flavonoides. Estudos epidemiológicos realizados nas últimas décadas indicaram que uma alta ingestão de flavonoides estaria associada a um risco significativamente menor de doenças cardiovasculares e câncer (Knekt *et al.*, 1996; Hertog *et al.*, 1997; Arts e Hollman, 2005).

A exposição à radiação UV está associada ao aumento na produção de radicais livres, sendo responsável por alterações cutâneas. As formulações contendo filtros químicos não proporcionam total proteção, principalmente quando relacionado ao aumento dos radicais livres e seu efeitos crônicos como: fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese (Velasco *et al.*, 2008). Desta forma os antioxidantes podem complementar a proteção dos filtros químicos neutralizando os radicais livres produzidos na pele após exposição solar (Chiu e Kimball, 2003). Os protetores solares que estão entrando atualmente no mercado já contêm antioxidantes além dos filtros UV para proteger a pele dos danos causados pela radiação solar e também na recuperação do sistema de defesa antioxidante (Meinke *et al.*, 2013).

Além da proteção da pele, os antioxidantes também são utilizados no tratamento pela via oral de diferentes patologias, sendo uma delas o câncer. Os benefícios do uso de antioxidantes são o controle no crescimento tumoral e a diminuição dos efeitos colaterais de fármacos citotóxicos. Assim, quando antioxidantes são associados aos fármacos antitumorais consegue-se um efeito aprimorado com menores doses. Os antioxidantes possuem a capacidade de potencializar os efeitos de fármacos antitumorais, podendo assim diminuir a dose administrada desses medicamentos, sem prejudicar o efeito terapêutico, proporcionando, conseqüentemente, a redução dos efeitos colaterais (Weijl *et al.*, 1998; Lamson e Brignall, 1999).

Um dos antioxidantes mais estudados é o resveratrol (RSV) (figura 1). A sua descoberta ocorreu na década de 40, mas foi apenas nos anos 90 que se iniciaram os primeiros estudos mostrando os efeitos benéficos do RSV à saúde humana, quando foi atribuído a este

composto, ao menos em parte, alguns dos efeitos do “Paradoxo Francês” (Kopp, 1998). Este paradoxo resultou da observação de que a mortalidade por doenças cardiovasculares era relativamente baixa na França, apesar do alto consumo de gorduras saturadas. A única correlação encontrada foi o maior consumo de vinho tinto (2-3 copos/dia). Como o RSV está presente no vinho tinto e o consumo desta bebida protege contra doenças cardiovasculares (Renaud *et al.*, 1998) foi sugerido que o RSV seria o responsável por estes efeitos. Desde então, dezenas de trabalhos são publicados anualmente mostrando que o RSV pode prevenir ou diminuir a progressão de diversas doenças, incluindo o câncer (Jang *et al.*, 1997), doenças cardiovasculares (Bradamante *et al.*, 2004), neurodegenerativas (Zamin *et al.*, 2006) e na redução de danos causados pela radiação UV na pele. Em leucemia mielóide crônica (LMC), já foi demonstrado que o RSV induz processos celulares como apoptose e autofagia, por diferentes vias bioquímicas, em diferentes estudos realizados *in vitro* na linhagem celular K562 (Puissant *et al.*, 2008). O potencial de tratamento do RSV em diferentes doenças pode ser ainda mais potencializado pela sua veiculação em nanocarreadores.

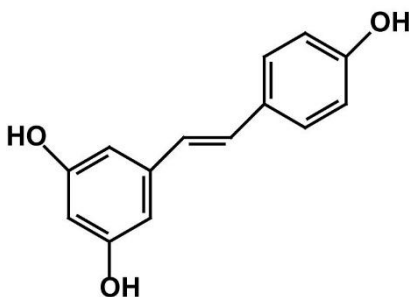


Figura 1. Estrutura química do resveratrol

Outro antioxidante também muito estudado é o ácido lipóico (LA) (figura 2). O mesmo apresenta efeito biológico antioxidante, o qual é mediado principalmente por sua habilidade direta de sequestrar espécies reativas de oxigênio (ERO), interagir com outros antioxidantes (como ácido ascórbico, α -tocoferol e GSH), regenerando-os, e quelar metais (Packer e Cadenas, 2011). Trabalhos e estudos clínicos apontam para a utilidade do LA como agente terapêutico para diversos distúrbios, como isquemia cerebral e do miocárdio, intoxicação por metais pesados, diabetes, síndrome da imunodeficiência adquirida e distúrbios neurodegenerativos, como mal de Alzheimer e demências relacionadas (Packer *et al.*, 1995; Holmquist *et al.*, 2007). Sua aplicação tópica tem capacidade de sequestrar radicais livre na pele (Podda *et al.*, 1994).

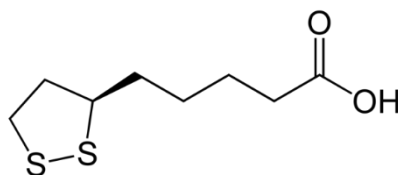


Figura 2. Estrutura química do ácido lipóico.

Dentre os desafios do uso de antioxidantes, destaca-se sua instabilidade química, provocada principalmente por oxidação. No caso do RSV, esse composto é facilmente oxidável e extremamente fotossensível (Trela e Waterhouse, 1996; Piñeiro *et al.*, 2006). Essa instabilidade frente à luz, ao ar e às enzimas oxidativas reduz a sua viabilidade e a sua biodisponibilidade para o uso clínico (Kim *et al.*, 2009). O LA é outro composto de uso terapêutico cuja instabilidade química pode dificultar sua aplicabilidade. Este antioxidante está sujeito a fenômenos de instabilização por degradação térmica, fotoquímica, degradação em meio ácido e por oxidação (Segall *et al.*, 2004; Souto *et al.*, 2004). Estes fatores dificultam a veiculação destes compostos em formas farmacêuticas para administração tanto oral quanto tópica. Desta forma, faz-se necessário a busca por estratégias para contornar estas limitações.

Como estratégia para estabilização de substâncias, a veiculação em partículas nanotecnológicas surge como uma oportunidade. A nanotecnologia pode ser usada principalmente para a proteção de compostos, especialmente para substâncias sensíveis à oxidação em meio aquoso, por variação de pH ou efeito de luz ultravioleta (Müller *et al.*, 2002; Guterres *et al.*, 2007). Tanto RSV quanto o LA já foram incorporados em nanocápsulas poliméricas, apresentando melhora da estabilidade físico-química e de suas propriedades antioxidantes. (Kim e He, 2013; Kulkamp *et al.*, 2009).

A junção de ativos quimicamente lábeis (por exemplo, RSV e LA) em nanocarreadores pode oferecer preservação contra degradação com liberação controlada dos ativos (Daudt *et al.*, 2013). Uma estratégia ainda pouco explorada é a co-encapsulação de antioxidantes em nanoestruturas. A incorporação simultânea em niossomas, de ácido gálico/curcumina e ácido ascórbico/quercetina promoveu aumento da estabilidade química em relação às formulações contendo um único antioxidante. Foi observado que a associação melhorou a capacidade de reduzir radicais livres, devido a uma ação antioxidante sinérgica (Tavano *et al.*, 2014). A coencapsulação do RSV com curcumina em nanocápsulas de núcleo

lipídico aumentou a fotoestabilidade do RSV e melhorou a sua atividade antioxidante (Coradini *et al.*, 2014). O LA foi coencapsulado em nanocápsulas de núcleo lipídico com melatonina (Külkamp *et al.*, 2011). Os benefícios da combinação entre o LA e o RSV já foram demonstrados, apresentando efeitos principalmente na neuro e cardioproteção (Saleh *et al.*, 2014; Cheserek *et al.*, 2016). Porém, nenhum estudo utilizou a associação em nanocarreadores.

Ainda, outra possível aplicação potencial da nanotecnologia é a veiculação de antioxidantes no tratamento do câncer em associação a fármacos antitumorais. Os antioxidantes possuem capacidade de potencializar a ação de fármacos antitumorais e, em associação, também diminuir a dose necessária dos fármacos antitumorais, proporcionando assim uma redução nos efeitos colaterais (Weijl *et al.*, 1998; Lamson e Brignall, 1999). Os antioxidantes, além de controlarem o crescimento tumoral, podem ainda ser usados em associação a fármacos antitumorais com o objetivo de reduzir seus efeitos adversos (Antunes e Takahashi, 1998).

Desta forma, a justificativa deste trabalho, é a utilização dos antioxidantes, RSV e LA, e sua veiculação em nanocápsulas de núcleo lipídico, visando à aplicabilidade em diferentes patologias. A hipótese de trabalho consiste na nanoencapsulação simultânea de RSV e LA explorando o potencial desta associação em uma formulação para uso tópico. Adicionalmente, o efeito antitumoral do RSV contra as células K562, será investigado visando ampliar a aplicabilidade da tecnologia proposta.

TEMA E OBJETIVOS

O tema desta tese contempla as aplicações biológicas de RSV e do LA nanoencapsulados, isoladamente ou em associação. Desta forma o objetivo geral desta tese está dividida em duas áreas de investigação, sendo a primeira delas o desenvolvimento de nanocápsulas de núcleo lipídico contendo a associação do RSV e LA, a avaliação de sua atividade antioxidante e sua segurança. Na segunda área de investigação, o objetivo geral é o desenvolvimento de uma nanocápsula de núcleo lipídico contendo RSV para o tratamento da LMC, utilizando a linhagem celular K562.

Para que seja possível alcançar os objetivos gerais deste trabalho propõem-se os seguintes objetivos específicos.

Parte 1:

- Desenvolver uma metodologia analítica por HPLC-UV para a quantificação simultânea do RSV e LA;
- Produzir e caracterizar suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico contendo RSV e LA e sua associação;
- Avaliar a atividade antioxidante das suspensões de nanocápsulas contendo RSV e LA e sua associação em comparação com os compostos livres;
- Avaliar a estabilidade química contra a radiação UVA das suspensões de nanocápsulas contendo RSV e LA e sua associação em comparação com os compostos em solução.
- Avaliar a permeação e liberação das suspensões de nanocápsulas contendo RSV e LA e sua associação.
- Avaliar a atividade antioxidante das suspensões de nanocápsulas contendo RSV e LA e sua associação.
- Avaliar a toxicidade das suspensões de nanocápsulas em células BALB-C 3T3 contendo RSV e LA e sua associação.

Parte 2:

- Revisar na literatura estudos sobre o efeito antiproliferativo do RSV em células de LMC;
- Produzir e caracterizar suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico contendo RSV;
- Avaliar a viabilidade celular na linhagem K562 de LMC tratadas com o RSV em solução e a suspensão de nanocápsulas contendo RSV;
- Avaliar o mecanismo de morte da linhagem celular K562 de LMC tratadas com a suspensão de nanocápsulas contendo RSV;
- Avaliar a viabilidade celular da linhagem K562 de LMC resistente ao mesilato de imatinibe tratadas com a suspensão de nanocápsulas contendo RSV.

DELINEAMENTO DO ESTUDO E ESTRUTURA DA QUALIFICAÇÃO

Para atingir os objetivos, a condução deste trabalho iniciou com uma etapa de validação de metodologia analítica e posteriormente foi dividida em duas linhas de trabalho como citado anteriormente. Cada um dos capítulos desta tese possui objetivos específicos necessários para alcançar o objetivo geral. A estrutura da tese, com seus capítulos, objetivos e metodologias esta organizada em duas partes, com dois capítulos cada, estes organizados em artigos científicos, e um apêndice, resumidamente descrito na figura 3.

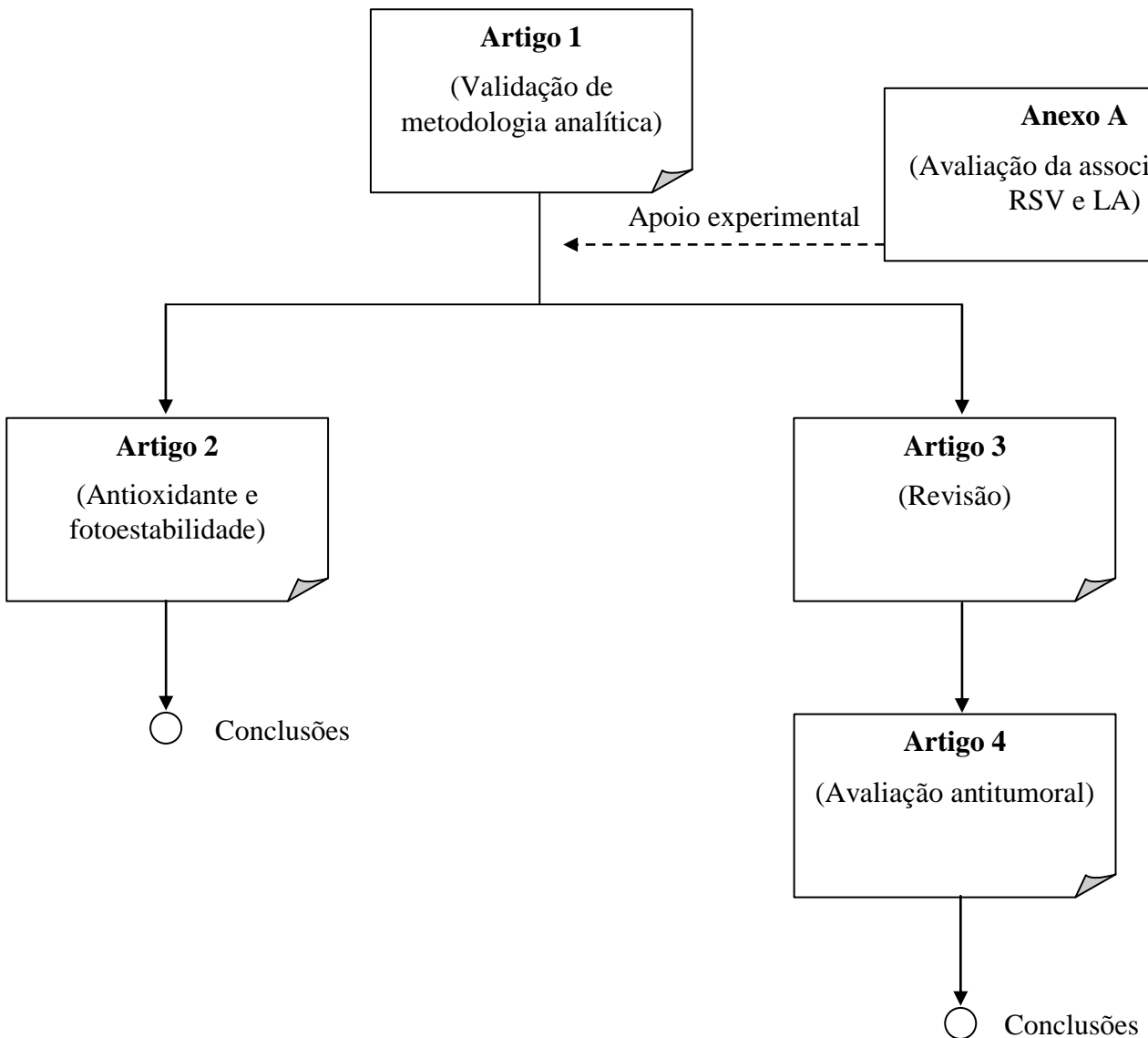


Figura 3: Representação esquemática da estrutura da tese.

PARTE I

Pele

A pele constitui o maior órgão do corpo humano e representa mais de 15% do peso corporal. Tem função de proteção sendo esse o primeiro contato do nosso organismo com o meio externo. Ela age protegendo o organismo contra forças mecânicas, contra a radiação UV e substâncias químicas. Além disso, ainda possui função de regulação da manutenção da temperatura corporal e síntese de vitamina D, que ocorre na pele através da exposição à radiação UVB. Adicionalmente, a pele também possui terminações nervosas que convertem o seu contato com o meio externo em sensações de toque, pressão, dor e temperatura (Obagi, 2004; Souza e Vargas, 2004).

A pele está dividida em epiderme, derme e hipoderme. A epiderme, a camada mais externa da pele, subdivide-se em camada córnea, camada granulosa, camada espinhosa e camada basal. A camada córnea, a mais externa da epiderme, formada por células mortas e queratinizadas denominadas de corneócitos, constitui a principal barreira à penetração de substâncias na pele (Kalia e Guy, 2001). Na epiderme viável, além dos corneócitos, estão também presentes os melanócitos (Shai *et al.*, 2009). Esses têm a função de produzir melanina, substância que protege a pele dos danos provocados pela radiação ultravioleta através da absorção, difração ou reflexão dessas radiações (Obagi, 2004; Souza e Vargas, 2004).

A derme, por sua vez, é o tecido situado logo abaixo da epiderme, tendo como função fornecer o aporte nutricional. Nessa camada estão presentes as fibras de colágeno e elastina, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas dispersas na substância fundamental. Os fibroblastos, as principais células da derme, são responsáveis pela produção de colágeno. Abaixo da derme há ainda a hipoderme, formada por tecido adiposo, atuando como reservatório de energia e como isolante térmico em situações de baixas temperaturas (Shai *et al.*, 2009).

O envelhecimento cutâneo é um processo complexo que está associado tanto a fatores extrínsecos como também intrínsecos, os quais incluem as alterações hormonais (El-Domyati *et al.*, 2002). A exposição crônica ao sol é o principal responsável pelo envelhecimento extrínseco, também chamado de fotoenvelhecimento, o qual ainda aumenta os riscos de

desenvolvimento de câncer. A sensibilidade aos raios solares é dependente da pigmentação da pele, ou seja, indivíduos com pigmentação elevada são geralmente menos sensíveis que indivíduos com pigmentação diminuída (Biesalski e Obermueller-Jevic, 2001). Além desses efeitos, a radiação UV também está relacionada com os carcinomas basocelular, espinocelular e com o melanoma, câncer de pele mais invasivo. No Brasil, a radiação UV é responsável por cerca de 30% de todos os tumores malignos registrados no país (Inca, 2018).

Efeitos da radiação solar sobre a pele

A radiação UV foi subdividida pela primeira vez no congresso internacional da luz em 1932 em UVA, UVB e UVC (Lim e Draelos, 2009). A radiação UVA se estende de 320-400 nm, recentemente dividida em UVA-I (340-400 nm) e UVA-II (320-340 nm) (González *et al.*, 2008), a UVB de 290-320 nm e a UVC de 100-290 nm. A radiação UVA curta, assim como a radiação UVB, pode levar ao aparecimento de mutações celulares (Ichihashi *et al.*, 2003). Por sua vez, a radiação UVA longa é absorvida por cromóforos endógenos, como o ácido urocânico dando origem a radicais livres (Menon, 2002).

O acúmulo destes radicais livres está envolvido no processo de envelhecimento. As defesas do organismo, compostas principalmente por enzimas antioxidantes, são ativadas quando a pele é exposta à radiação UV, em resposta ao acúmulo de radicais livres, responsáveis pelo aumento no estresse oxidativo. Ainda, na pele envelhecida existe uma diminuição das defesas antioxidantes, seja ela enzimática ou não-enzimática, resultante do próprio envelhecimento cutâneo, deixando assim a pele mais exposta à ação dos radicais livres (Longstreth *et al.*, 1998; Kohen, 1999; Bokov *et al.*, 2004). Deste modo o uso de antioxidantes em produtos cosméticos é importante no controle destes radicais livres.

Antioxidantes

Na pele, os principais problemas relacionados com o desequilíbrio redox são: o envelhecimento cutâneo e o câncer de pele (Pinnell, 2003; Ratnam *et al.*, 2006). Os antioxidantes atuam protegendo as células do estresse oxidativo endógeno e exógeno evitando a formação de radicais livres ou eliminando os radicais livres já formados antes que eles atinjam seus alvos específicos. Os antioxidantes podem ser divididos em duas grandes classes,

antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. Na pele, ambos interagem para promover a proteção intra e extracelular. Grande parte dos antioxidantes é produzida endogenamente, como enzimas, moléculas de baixo peso molecular e cofatores enzimáticos (Ratnam *et al.*, 2006).

Os antioxidantes enzimáticos que predominam nas células são a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx). A CAT, presente nos peroxissomos, é capaz de decompor peróxido de hidrogênio em oxigênio e água, sem gerar radicais livres. Assim como a CAT, a enzima glutathione peroxidase (GPx) também decompõe peróxido de hidrogênio. A SOD é capaz de catalisar a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. CAT e SOD estão entre os mais potentes agentes antioxidantes conhecidos na natureza (Marks *et al.*, 1996; Pinnell, 2003).

Os antioxidantes não-enzimáticos envolvem um amplo número de substâncias, sendo eles na maioria de origem natural e alguns desses sintetizados pelo homem. Os principais antioxidantes não-enzimáticos fisiológicos são moléculas de baixa massa molecular como: vitaminas C e E, ubiquinol e glutathione. Antioxidantes endógenos sofrem depleção durante períodos de estresse oxidativo, responsáveis pela manutenção do equilíbrio redox na pele. A reposição destes antioxidantes para proteção da pele pode ser feita através de suplementação via oral, porém essa via é dependente de absorção, solubilidade e transporte, que podem limitar a quantidade que será liberada na pele. Desta forma, os produtos de uso tópico são uma opção de escolha (Pinnell, 2003; Casagrande *et al.*, 2007). Não obstante as suas habilidades individuais, existem evidências crescentes de que alguns antioxidantes funcionam de forma mais eficaz quando associados. Este efeito sinérgico pode ajudar no combate aos radicais livres (Graf, 2010).

Nanotecnologia

O emprego de antioxidantes para reduzir os efeitos causados pela exposição solar teve um aumento nos últimos anos. É desejado que seu efeito seja local, assim é importante que estes permaneçam na pele, penetrando, mas sem serem absorvidos via sistêmica. Desta forma, a seleção de um veículo adequado, a liberação da molécula de interesse na pele e a extensão

da penetração através do estrato córneo são importantes na sua eficácia (Benita, 1999; Müller *et al.*, 2002).

A nanotecnologia, definida como o desenvolvimento, a produção, a caracterização e a aplicação de estruturas ou dispositivos na escala nanométrica, surge como uma possibilidade de veiculação promissora no uso de antioxidantes via tópica. As nanopartículas poliméricas são definidas como sistemas coloidais que incluem nanoesferas e nanocápsulas. As nanocápsulas são estruturas do tipo parede-núcleo, sendo que a substância ativa, na forma líquida ou sólida na forma de dispersão molecular, pode estar dispersa no núcleo, na parede ou em ambos (Schaffazick *et al.*, 2003; Dumitriu e Popa, 2013).

Diferentes sistemas nanométricos, como lipossomas, niossomas e nanoemulsões são utilizados na cosmetologia para veiculação de ativos (Patravale e Mandawgade, 2008). Estes sistemas de liberação têm sido aplicados em cosméticos com o intuito de aumentar a fotoestabilidade (Perugini *et al.*, 2002), melhorar a efetividade de filtros solares (Alvarez-Román *et al.*, 2001; Alvarez-Román *et al.*, 2004) e permitir a liberação controlada e prolongada de ativos (Almeida e Souto, 2007; Hoffmeister *et al.*, 2012). Também podem facilitar a incorporação de substâncias em produtos dermatológicos e propiciar confortável aplicação cutânea (Alves *et al.*, 2007; Guterres *et al.*, 2007).

A utilização de nanotecnologia no mercado de produtos cosméticos é presente. A primeira empresa a inserir um cosmético em domínio internacional, com base nanotecnológica, foi a Lancôme (divisão da L'Oréal) em 1995, com a apresentação de um creme para a face contendo nanocápsulas de vitamina E, para o tratamento antienvhecimento. No Brasil, a empresa pioneira a colocar no mercado um nanocosmético foi O Boticário em 2005, com um creme anti-sinais contendo nanocápsulas para a área dos olhos, testa e lábio (Baril M.B. *et al.*, 2012).

Resveratrol

O Resveratrol (RSV; 3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é um polifenol que ocorre naturalmente em mais de 70 tipos de plantas como uvas, amendoim, amoras, mirtilo, entre outras. Esta substância é sintetizada pelas plantas em resposta às agressões ambientais como

exposição à radiação UV e ataques de microorganismos (Aggarwal *et al.*, 2004; Harikumar e Aggarwal, 2008). Os efeitos benéficos do RSV estão relacionados ao tratamento de patologias relacionadas com a idade, como diabetes tipo 2, aterosclerose, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e o câncer (Aggarwal *et al.*, 2004; Pearson *et al.*, 2008; Miller *et al.*, 2011) além de possuir atividade antifúngica (Lee e Lee, 2015). O efeito do RSV sobre o câncer foi descrito primeiramente em câncer epitelial, sendo capaz de inibir processos de gênese tumoral nas suas 3 etapas: iniciação, promoção e progressão tumoral (Jang *et al.*, 1997).

Com base nas propriedades químicas do RSV, uma vez que este desempenha um papel de proteção em muitas condições cutâneas, incluindo câncer de pele (Packer e Valacchi, 2002; Nichols e Katiyar, 2010), uma grande quantidade de estudos *in vivo* e *in vitro* sobre o efeito da RSV na pele vem sendo realizados. Em geral, o uso tópico de compostos naturais tem sido sugerido, podendo evitar problemas principalmente de toxicidade. No estudo de Alonso e colaboradores, a permeação cutânea do RSV foi avaliada, demonstrando que o RSV aplicado topicamente penetra na pele em uma forma gradiente, e que, após a sua penetração, o mesmo foi capaz de manter sua eficiência antioxidante (Alonso *et al.*, 2017). O composto RSV em testes *in vitro* com a linhagem celular HaCaT expostas a radiação UVA demonstrou uma diminuição da formação de radicais livres e manutenção da morfologia celular (Baxter, 2008; Bastianetto *et al.*, 2010). Em fibroblastos cutâneos tratados com RSV houve um aumento, dose-dependente, na taxa de proliferação celular e inibição da atividade da colagenase (Giardina *et al.*, 2010).

Nos últimos anos, várias formulações tópicas de RSV estão sendo desenvolvidas, tais como cremes, óleos e emplastos de hidrogel ou micropartículas de RSV que parecem prolongar sua liberação na pele (Hung *et al.*, 2008). Além disso, o uso de uma nano-suspensão estável de RSV melhora o seu transporte através das membranas assim como aumenta a solubilidade e estabilidade do RSV. Nanoformulações baseadas em vesículas fosfolipídicas foram desenvolvidas para fornecer RSV como fonte antioxidante para a pele (Caddeo *et al.*, 2015).

O RSV é um composto fotossensível, desta forma a veiculação em nanocarreadores é uma estratégia para sua proteção. A veiculação do RSV já foi realizada em diferentes

estruturas. Lucas-Abellán e colaboradores trabalharam com a formação de complexos de inclusão entre β -ciclodextrina e RSV, onde a adição dessas ciclodextrinas no meio reacional demonstrou um efeito inibitório sobre a oxidação do RSV por lipo-oxigenases (Lucas-Abellán *et al.*, 2007). Das e Ng (2010) desenvolveram formulações para a liberação prolongada do RSV, como grânulos de cálcio-pectina (Ca-pectina), para proteger o ativo durante a sua passagem através do trato gastrointestinal (TGI) superior e garantir a sua liberação na região do cólon. Kim e colaboradores encapsularam RSV em nanopartículas de poli(ϵ -caprolactona), polímero muito utilizado, obtidas pelo método de emulsão simples e evaporação do solvente (Kim *et al.*, 2009). Frozza e colaboradores, visando preservar a atividade biológica do RSV e melhorar a sua biodisponibilidade cerebral, prepararam nanocápsulas de RSV com núcleo lipídico (Frozza *et al.*, 2010). Além destes, um trabalho envolvendo nanocápsulas de núcleo lipídico demonstrou ser viável à co-encapsulação do RSV com outros compostos, neste caso a curcumina, onde destacou-se o aumento da fotoestabilidade de ambos e a melhora da atividade antioxidante desses polifenóis associados (Coradini *et al.*, 2014).

Além da veiculação em nanopartículas, a combinação de antioxidantes é uma idéia muito interessante a ser estudada. O RSV é um composto que apresenta bons efeitos no uso combinado com outros antioxidantes ou fármacos. Khandelwal e colaboradores mostraram que o RSV combinado com a quercetina reduz sinergicamente a extensão da restenose (uma complicação crítica da angioplastia), possivelmente pela inibição da proliferação e inflamação das células do músculo liso vascular (Khandelwal *et al.*, 2012). Além disso, um estudo de Zhou e colaboradores mostrou melhora no perfil transcriptômico e metabolômico, com efeitos sinérgicos do RSV combinado com a quercetina, em ratos com dieta rica em gordura (Zhou *et al.*, 2012). Kiskova e colaboradores evidenciaram recentemente que a combinação de RSV com melatonina exerce efeitos quimiopreventivos na carcinogênese mamária de rato induzida por N-metil-N-nitrosourea (NMU). Na carcinogênese mamária induzida por NMU, combinação resultou em uma diminuição significativa da incidência do tumor demonstrando, assim, uma resposta quimiopreventiva (Kisková *et al.*, 2012). Ainda Malhotra e colaboradores avaliaram que o RSV associado à curcumina também proporciona melhor resposta quimiopreventiva, neste caso em carcinogênese pulmonar induzida por benzopireno (Malhotra *et al.*, 2011).

A associação do RSV com outros fármacos já foi evidenciada também em nanocarreadores. A combinação de fármacos anticancerígenos em nanocarreadores é uma estratégia terapêutica promissora contra tumores resistentes. Meng e colaboradores demonstraram que a co-encapsulação de RSV e Paclitaxel em um lipossoma reverteu à resistência ao paclitaxel em células de câncer de mama MCF-7, melhorando a eficácia contra células sensíveis e resistentes ao paclitaxel *in vivo*. (Meng *et al.*, 2016). Ainda, conforme relatado anteriormente, a co-encapsulação do RSV com a curcumina melhorou a atividade antioxidante dos compostos (Coradini *et al.*, 2014).

Ácido lipóico

O ácido lipóico (LA; 1,2-ditiolano-3-ácido pentanoico) é um composto dissulfeto sintetizado enzimaticamente na mitocôndria a partir do ácido octanóico (Liu *et al.*, 1995; Packer *et al.*, 1995). Diversos alimentos contém LA, os mais ricos são o espinafre, brócolis e tomate (Lodge *et al.*, 1997). Uma vez absorvido pela dieta, o LA é transportado para dentro das células onde é reduzido à ácido diidrolipóico (ADHL) no citoplasma pela enzima glutationa-redutase e na mitocôndria pela enzima diidrolipoamida desidrogenase (Moini *et al.*, 2002).

O efeito biológico descrito para LA é o antioxidante, o qual é mediado principalmente por sua habilidade direta de sequestrar espécies reativas de oxigênio, interagir com outros antioxidantes (como ácido ascórbico, α -tocoferol e GSH), regenerando-os, e de quelar metais (Packer e Cadenas, 2011). Trabalhos e estudos clínicos apontam a utilidade do LA como agente terapêutico em diversos distúrbios, como isquemia cerebral e do miocárdio, intoxicação por metais pesados, diabetes, síndrome da imunodeficiência adquirida e distúrbios neurodegenerativos, como mal de Alzheimer e demências relacionadas (Packer *et al.*, 1995; Holmquist *et al.*, 2007).

O LA é um antioxidante que pode ser utilizado via tópica, sua eficácia é atribuída ao seu subproduto ADHL, um antioxidante extremamente poderoso que inativa radicais livres. O ADHL é instável e ineficaz em poucos minutos após a aplicação. O LA, no entanto, é mais estável e facilmente absorvido, portanto, é uma maneira efetiva de obter o ADHL na pele (Podda *et al.*, 1994). O LA aplicado via tópica a 3% reduz o eritema induzido via exposição à

radiação UV em animais, com tempo de exposição a radiação de 4hs reduzindo os efeitos do fotoenvelhecimento (Podda *et al.*, 1996). Outro estudo, de 12 semanas, usando um creme a 5% também teve resultados efetivos no tratamento do fotoenvelhecimento contra radiação UVB (Beitner, 2003; Rijnkels *et al.*, 2003).

O LA, porém, não apresenta boa estabilidade química, desta forma uma possível alternativa é o emprego da nanotecnologia. Külkamp e colaboradores demonstraram que o LA nanoencapsulado com o emprego de poli(ϵ -caprolactona) como polímero e triglicerídeos de cadeia média como núcleo das nanocápsulas, aumentam a estabilidade físico-química em comparação com formulações contendo LA em solução (Külkamp *et al.*, 2009). Posteriormente, os mesmos autores demonstraram que a nanoencapsulação melhora o efeito antioxidante do LA *in vitro*, pelo teste de proteção contra a peroxidação lipídica (Külkamp *et al.*, 2011). Além disso estudos já demonstraram que a aplicação do LA nanoencapsulado em formulações semi-sólidas melhoram as características sensoriais das formulações (Külkamp-Guerreiro *et al.*, 2013; Silva Martins *et al.*, 2018). Adicionalmente, o LA nanoencapsulado em uma formulação semi-sólida apresentou perfil de liberação sustentada, baixa toxicidade em fibroblastos de ratos L929 sugerindo que as nanocápsulas poderiam ser um sistema promissor para a administração tópica do LA (Xia *et al.*, 2017).

Como mencionado anteriormente, a combinação de antioxidantes e sua associação a outros fármacos é uma ideia muito interessante a ser estudada. Abdelkarem e colaboradores demonstraram que carnitina e LA quando associados podem melhorar a resistência à insulina, aumentando o nível de adiponectina na síndrome metabólica, tendo um papel benéfico para a prevenção da síndrome metabólica e a evolução da diabetes tipo 2 (Abdelkarem *et al.*, 2016). Zhao e colaboradores associaram o LA com o antioxidante coenzima Q10 co-encapsulados em lipossomas, não apresentando citotoxicidade em fibroblastos de ratos L929, mantendo as atividades antioxidantes e ainda apresentando atividade antimicrobiana. Desta forma, este sistema de entrega de antioxidantes tem potencial uso em cosméticos ou medicamentos, apresentando baixa citotoxicidade e necessidade de baixas concentrações de conservantes sintéticos na formulação (Zhao *et al.*, 2017).

A combinação do RSV e LA tem sido estudada nos últimos anos. Saleh e colaboradores demonstraram que a combinação de doses sub-limítrofes de RSV e LA

proporciona neuroproteção significativa, provavelmente resultante dos efeitos sinérgicos (Saleh *et al.*, 2014). Esta associação também protege o neurônio do grânulo cerebelar exposto à amônia, surgindo assim como uma estratégia terapêutica interessante para o gerenciamento de encefalopatia hepática (Bobermin *et al.*, 2015). Além da neuroproteção, Cheserek e colaboradores evidenciaram que a associação de RSV e LA tem efeito cardioprotetor diminuindo o estresse oxidativo no coração e auxiliando na redução da obesidade, restaurando assim os níveis plasmáticos de hormônios tireoidianos (Cheserek *et al.*, 2016). Porém, a associação de RSV e LA apresenta potencial para o desenvolvimento de uma formulação para uso tópico, ainda não explorado na literatura.

ARTIGO 1: VALIDATION OF A SIMPLE METHOD FOR LIPOIC ACID AND RESVERATROL SIMULTANEOUS DETERMINATION BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Apresentação

O conteúdo presente no capítulo 1 foi publicado, porém foi excluído nesta versão parcial da tese respeitando os direitos de divulgação do periódico. Entretanto, foram inseridas a seguir as principais considerações dos conteúdos retirados. No total, foi suprimido o conteúdo presente entre a página 45 até a página 64.

A associação do RSV e do LA aparece como potencial tanto para uso oral quanto para utilização em cosméticos. Na literatura, não foi encontrado nenhuma metodologia de doseamento simultâneo do RSV e LA, assim foi desenvolvido um método para a identificação e quantificação simultânea destas substâncias. A utilização do HPLC-UV é uma alternativa em potencial para a identificação e quantificação de duas substâncias sem separação prévia.

Assim, este estudo contempla a validação metodológica para a associação entre RSV e LA, tomando como base a resolução da ANVISA 166/2017 e o ICH. Este manuscrito foi publicado no periódico Drug Analytical Research.

**VALIDATION OF A SIMPLE METHOD FOR LIPOIC ACID AND RESVERATROL
SIMULTANEOUS DETERMINATION BY HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY**

**Samuel Davies^a, Simone Jacobus Berlitz^a, Sílvia Stanisçuaski Guterres^a, Irene Clemes
Külkamp-Guerreiro*^a.**

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

*Corresponding Author: Irene Clemes Kulkamp Guerreiro

Departamento de Produção de Matéria-prima, Faculdade de Farmácia, UFRGS

Av. Ipiranga 2752, Bairro Santana

CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil.

Phone: + 55 51 33085416

E-mail: irene@ufrgs.br

VALIDATION OF A SIMPLE METHOD FOR LIPOIC ACID AND RESVERATROL SIMULTANEOUS DETERMINATION BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Abstract

A high-performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) method was developed and validated for simultaneous determination of Resveratrol (RSV) and Lipoic Acid (LA). A C18 column was used with a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.01M phosphoric acid (60:40). The detection wavelength was at 235 nm. The method was specific in the presence of pharmaceutical excipients widely used in solid dosage forms or lipid-core nanocapsules. The results demonstrated linearity between 5 and 50 µg/mL for RSV and 30 and 120 µg/mL for LA. The method presented precision and accuracy (RSD <5%). In addition, the developed method was considered robust. Therefore, the developed method can be applied successfully for simultaneous determination of RSV and LA in the proposed conditions, with a potential application to assay both drugs in several dosage forms.

Keywords: Lipoic acid, resveratrol, high performance liquid chromatography, validation, simultaneous determination.

ARTIGO 2: Development of lipid core nanocapsules co-encapsulating resveratrol and lipoic acid with improved antioxidant properties

Apresentação

O conteúdo presente no capítulo 2 ainda não foi publicado, foi excluído nesta versão parcial da tese. Entretanto, foram inseridas a seguir as principais considerações dos conteúdos retirados. No total, foi suprimido o conteúdo presente entre a página 68 até a página 96.

Neste capítulo 2 foi desenvolvida nanocápsulas de núcleo lipídico contendo a associação de RSV e LA. Esta formulação foi caracterizada apresentando propriedades tecnológicas satisfatórias.

A formulação com a associação do RSV e LA demonstrou melhorar o efeito antioxidante comparada com os antioxidantes em solução. Aumentou a estabilidade físico-química das substâncias além de melhorar o controle de liberação e permeação do LA.

**Development of lipid core nanocapsules co-encapsulating resveratrol and lipoic acid
with improved antioxidant properties**

Samuel Davies^a, Renata Vidor Contri^b, Silvia Stanisçuaski Guterres^{a,b,c}, Adriana Raffin Pohlmann^{a,b}, Irene Cledes Kulkamp Guerreiro^{a,b,c}.

^aPrograma de Pós Graduação em Ciências farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil;

^b Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil;

^c Programa de Pós Graduação em Nanotecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil;

*corresponding author: Irene Cledes Kulkamp-Guerreiro at Av. Ipiranga, 2752, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90610-000, Porto Alegre, Brasil; Tel: +55-51-33085416; E-mail: irene@ufrgs.br

PARTE II

Leucemia mielóide crônica (LMC)

Os primeiros relatos clínicos sobre a LMC foram publicados em 1845 com detalhes microscópicos precários e características macroscópicas observadas em autópsias de pacientes que apresentavam acentuada hepatoesplenomegalia associada com “sangue purulento” (Geary, 2000). Porém, o primeiro indício importante sobre a patogênese veio somente em 1960, quando técnicas desenvolvidas para estudar as células em mitose permitiram detectar uma anormalidade cromossomal específica nas células do sangue de 7 pacientes com LMC. Esta anormalidade posteriormente recebeu o nome de cromossomo *Philadelphia* (Ph), sendo a primeira anormalidade cromossômica relacionada a uma neoplasia humana (Nowell, 1962). O cromossomo Ph pode ser identificado através de análises citogenéticas, onde o resultado é a translocação recíproca, t(9:22) (q34;q11), entre o proto-oncogene ABL localizado no braço longo do cromossomo 9 e o gene BCR localizado no braço longo do cromossomo 22. O cromossomo Ph pode ser identificado em cerca de 95% dos pacientes, sendo um marcador característico desta doença (Cortes *et al.*, 1995; Faderl *et al.*, 1999).

A LMC apresenta clinicamente três fases diferentes: uma fase crônica, uma fase acelerada (de metamorfose ou de transformação) e uma fase aguda (blástica). A fase crônica é a fase em que aproximadamente 85% dos diagnósticos são realizados, apresenta um alto número de células mielóides, células eritróides e plaquetas no sangue periférico e hiperplasia da medula óssea, caracterizada por sintomas inespecíficos tais como: fadiga, anorexia, suor, fraqueza, perda de peso e desconforto abdominal. É uma fase de fácil controle terapêutico, com uma sobrevida média de 3 a 6 anos sob terapia convencional (Faderl *et al.*, 1999). A fase acelerada é uma transição gradual da fase crônica para a fase blástica, tem uma duração de 2 a 15 meses e é caracterizada pela perda progressiva do controle clínico e hematológico. Cerca de 75 a 80% dos pacientes passam por esta fase antes de evoluir à fase blástica (Kantarjian *et al.*, 1988; Kantarjian *et al.*, 1993; Hill e Meehan, 1999). Na fase blástica, o paciente adquire características de uma leucemia mielóide aguda (LMA) ou linfóide aguda (LLA), dependendo do tipo de diferenciação celular. O surgimento de numerosos blastos durante a progressão da LMC é devido à perda gradual do potencial de diferenciação das células malignas, que coincide com o surgimento de novas alterações cromossomais (Karanas e Silver, 1968; Cortes *et al.*, 1995).

O diagnóstico de LMC ocorre frequentemente na fase crônica, como dito anteriormente, e manifesta-se por sintomas não específicos. Os exames laboratoriais realizados para o diagnóstico são o hemograma completo, aspiração e biópsia da medula óssea e pesquisa do cromossomo Ph. A suspeita clínica no hemograma mostra leucocitose acima de $25.000/\text{mm}^3$ ($25 \times 10^9/\text{L}$) frequentemente excedendo $100.000/\text{mm}^3$ ($100 \times 10^9/\text{L}$) com aproximadamente 20% de formas mielóides imaturas, porém menos de 15% de blastos no sangue periférico e medula óssea. É característico também o aumento de eosinófilos e basófilos podendo ocorrer trombocitose (Cortes *et al.*, 1996; Hill e Meehan, 1999). O diagnóstico genético é realizado normalmente por citogenética padrão, hibridização *in situ* por fluorescência, RT-PCR e através da análise por Northern e Southern blot (Redaelli *et al.*, 2004).

Tratamento

O tratamento da LMC iniciou com o uso da irradiação por volta de 1900, passando pelo uso do bussulfano, hidroxiureia pela década de 50 e 60, o uso de IFN- α na década de 1980, porém estes tratamentos apenas combatiam os sintomas da LMC, não alterando a progressão da doença (Hehlmann *et al.*, 2007; Shah *et al.*, 2016). Em meados de 2001, o mesilato de imatinibe foi projetado especificamente contra seu alvo, a proteína BCR-ABL, e revolucionou o tratamento da LMC, produzindo os melhores efeitos terapêuticos já alcançados (Lydon e Druker, 2004). O mesilato de imatinibe é uma molécula de baixa massa molecular (PM 589,7) que ocupa o sítio quinase da proteína BCR-ABL e bloqueia o acesso do ATP, inibindo a capacidade da proteína BCR-ABL de fosforilar proteínas envolvidas na transdução de sinais e bloqueando a proliferação celular do clone maligno (Savage e Antman, 2002). Desta forma o mesilato de imatinibe aumentou a sobrevida de pacientes com LMC em fase crônica de 20 para 80-90%, durante 10 anos de acompanhamento (Jabbour e Kantarjian, 2016).

Apesar do avanço na terapia da LMC, em alguns pacientes é observada a resistência ao tratamento. Ela é dividida em primária (ausência de resposta) ou secundária (perda de resposta) e ocorre devido a fatores BCR-ABL independentes ou fatores BCR-ABL dependentes, estes mais conhecidos (Druker *et al.*, 2002). A resistência primária geralmente deve-se aos mecanismos BCR-ABL independentes, e geralmente é revertida pelo aumento da

dosagem. No entanto, cerca de 10% dos pacientes ainda apresentam resistência primária apesar da dose mais elevada (Hochhaus, 2003; Kantarjian *et al.*, 2004).

A resistência secundária está relacionada normalmente a fatores BCR-ABL dependente como, mutações no domínio quinase da BCR-ABL intervindo na ligação do mesilato de imatinibe no seu alvo, superexpressão do gene BCR-ABL e amplificação da proteína BCR-ABL. O aumento da dose, em alguns casos, gera uma resposta positiva, mas passageira. As estratégias atuais para contornar a resistência incluem o uso de outros inibidores da tirosina quinase de segunda e terceira geração, como nilotinibe, dasatinibe, bosutinibe e ponatinibe (Chereda e Melo, 2015).

Os inibidores da tirosina quinase de segunda geração se mostraram mais eficazes nos casos de resistência ao mesilato de imatinibe comparado a casos em que as doses do mesilato de imatinibe foi aumentada. O nilotinibe, por exemplo, é um análogo estrutural do mesilato de imatinibe e sua afinidade pelo o sítio de ligação do ATP em BCR-ABL é de 30-50 vezes maior *in vitro*, enquanto o dasatinibe é 350 vezes mais potente do que o mesilato de imatinibe *in vitro*. Já, o ponatinibe é um inibidor da tirosina quinase de terceira geração, 500 vezes mais potente que o mesilato de imatinibe na inibição de BCR-ABL e foi o primeiro inibidor a exibir a atividade em pacientes com LMC que apresentam a mutação T315I (Baccarani *et al.*, 2015; Jabbour e Kantarjian, 2016; Shah *et al.*, 2016).

Um fator importante a ser tratado no tratamento com mesilato de imatinibe é o alto custo, sendo estimado um custo anual de R\$ 20.000,00 a R\$ 30.000,00 para um paciente de LMC adulto, em doses de 400 mg/dia e 600 mg/dia, respectivamente usando os medicamentos hoje produzidos no Brasil. Este tratamento é totalmente financiado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) o que se torna altamente oneroso para os cofres públicos.

Mesmo com o avanço na terapia da LMC o transplante de células tronco hematopoiéticas alogênico é a única possibilidade de cura, porém está associado a um risco de mortalidade e morbidade, devido a possíveis complicações pós-transplante, como: doença de enxerto contra o hospedeiro, imunossupressão e infecções generalizadas (Faderl *et al.*, 1999; Jiang *et al.*, 2014). Além destes fatores, a dificuldade de encontrar um doador compatível também limita as chances de transplante, uma vez que entre irmãos de mesmos pais a chance

de encontrar compatibilidade é de 25%, assim aproximadamente 60% dos pacientes não encontram doador compatível na família (Radich, 2009). Ainda assim, a chance de cura é de aproximadamente 65%, porém pode variar de acordo com as características do paciente como a idade, tempo entre diagnóstico e transplante e compatibilidade do doador (Pallotta *et al.*, 2006). Assim, se faz necessário a busca de novos fármacos para o tratamento de pacientes que apresentam resistência aos inibidores da tirosina quinase, uma vez que o transplante está associado a um considerável risco de mortalidade.

Resveratrol

O RSV, já descrito na parte I desta tese, é um composto polifenólico produzido por várias plantas, principalmente pela uva, em resposta a fontes de estresse como microrganismos, insetos e radiação UV (Langcake e Pryce, 1977). Os primeiros estudos relacionando os efeitos benéficos do RSV à saúde humana esta relacionado ao Paradoxo Frances (Kopp, 1998). A partir de então, diversos estudos demonstram seus efeitos benéficos, como anti-inflamatório, antioxidante e antitumoral, dentre muitos outros. Sua atividade antineoplásica, em foco nos últimos anos, ocorre nas três etapas da carcinogênese: iniciação, promoção e progressão tumoral (Jang e Surh, 2003; Bradamante *et al.*, 2004; Baur *et al.*, 2006; Zamin *et al.*, 2006).

Resveratrol e câncer

Os estudos do RSV no combate ao câncer iniciaram na inibição da carcinogênese em um modelo de câncer de pele em ratos (Jang *et al.*, 1997). A partir desta descoberta, seguiram-se inúmeras publicações relacionadas com o tema, onde se demonstrou que o RSV tem efeitos citotóxicos *in vitro* contra uma grande variedade de células tumorais humanas, incluindo células tumorais de origem mielóide, linfóide, mama, pele, colo do útero, ovário, estômago, próstata, cólon, fígado, pâncreas e carcinoma de tireóide (Aggarwal *et al.*, 2004; Harikumar *et al.*, 2010; Tomé-Carneiro *et al.*, 2013). Existem hoje na literatura, diversos estudos experimentais *in vivo* e *in vitro* mostrando o papel do RSV no câncer. Em ensaios clínicos já foi apresentada evidência do grande potencial do RSV como agente antitumoral, tanto para a prevenção como para terapia de uma variedade de cânceres (Ko *et al.*, 2017).

A capacidade de prevenir a carcinogênese inclui a diminuição do estresse oxidativo, peroxidação lipídica de membranas celulares e danos ao DNA resultante do acúmulo de radicais livres (Leonard *et al.*, 2003). Ele também atua diminuindo a inflamação pela inibição de ativadores de STAT3, reduzindo assim a proliferação e sobrevivência das células tumorais (Yu *et al.*, 2009; Siveen *et al.*, 2014). A atividade anti-proliferativa do RSV envolve principalmente a indução da apoptose em células tumorais (Ahmad *et al.*, 2001; Tinhofer *et al.*, 2001), principalmente alterando as proteínas da família Bcl-2 (Delmas *et al.*, 2011). A inibição das proteínas anti-apoptóticas da família Bcl-2 e a ativação de proteínas pró-apoptóticas, como Bad, Bak ou Bax, induz a apoptose via caspases (Aziz *et al.*, 2006; Bhardwaj *et al.*, 2007).

Embora esteja claro que o RSV mostrou excelentes propriedades antiproliferativas, a maioria dos estudos foi realizada em modelos *in vitro*. O RSV em humanos é metabolizado rapidamente, desta forma devido a sua baixa biodisponibilidade são necessárias altas doses do RSV. Apesar de ser bem tolerado em humanos, a baixa biodisponibilidade do RSV tem sido uma preocupação crítica em relação à transposição dos achados da pesquisa básica para o desenvolvimento de agentes terapêuticos (Smoliga e Blanchard, 2014). Desta forma, várias abordagens foram criadas para melhorar sua biodisponibilidade, incluindo consumi-lo com vários alimentos (La Porte *et al.*, 2010; Smoliga e Blanchard, 2014), usando-o em combinação com uma piperina fitoquímica adicional (Johnson *et al.*, 2011), e usando uma abordagem pró-fármaco (Liang *et al.*, 2013), pós micronizados (Howells *et al.*, 2011; Popat *et al.*, 2013), ou formulações nanotecnológicas (Ansari *et al.*, 2011; Wang, S. *et al.*, 2014).

Resveratrol e Leucemia Mielóide Crônica

O RSV, como já foi abordado anteriormente, apresenta propriedades antitumorais por diferentes vias. Em LMC, já foram publicados trabalhos mostrando que o RSV atua na linhagem celular K562 *in vitro*. Os mecanismos anti-leucêmicos do RSV descritos foram indução de apoptose, modulando a expressão de AMPK (Puissant *et al.*, 2008; Puissant *et al.*, 2010). O tratamento com RSV também se mostrou eficaz em células de LMC resistentes ao mesilato de imatinibe, resultando em parada do ciclo celular e morte celular apoptótica (Puissant *et al.*, 2008). Estudos subsequentes, demonstraram que o RSV pode também induzir

a morte celular via autofagia em células K562 por meio de um mecanismo duplo envolvendo o aumento de AMPK e JNK (Puissant *et al.*, 2010).

Outro efeito apresentado pelo RSV foi a diferenciação eritróide, que consiste no processo de transformação e proliferação de células tronco hematopoiéticas em hemácias maduras (RBCs). O tratamento de células K562 com RSV aumentou os níveis de expressão de genes de diferenciação eritróide como GPA, um dos principais componentes da membrana dos eritrócitos, aumento de HBA1, HBB e γ -globina, importantes para hemoglobinação, indicando que o RSV pode induzir a diferenciação eritróide nessas células (Yan *et al.*, 2014). Esses achados confirmam resultados antes encontrados (Puissant *et al.*, 2008), que mostravam hemoglobinação de células K562 sensíveis e resistentes ao mesilato de imatinibe tratadas com RSV. Essa diferenciação eritróide é um processo que parece depender da autofagia, também induzida pelo RSV, pois o aumento da autofagia teve correlação positiva com a expressão de marcadores de diferenciação eritróide (GPA, Band3 e CD71) em células K562 (Yan *et al.*, 2014). Assim, o RSV atua por diferentes mecanismos em células de LMC, sendo um forte candidato a terapia, assunto que será melhor abordado no capítulo III, uma revisão de literatura sobre os mecanismos antiproliferativos do RSV e LMC.

Nanotecnologia e câncer

A nanotecnologia tem sido amplamente utilizada no avanço de novas estratégias para a administração de fármacos, incluindo a terapia do câncer. Em comparação com os sistemas habituais de entrega de fármacos, o método de entrega associado à nanotecnologia tem maior potencial em diferentes áreas, como direcionamento, diagnóstico por imagem, tempo de circulação prolongado, liberação de controle sistêmico e entrega combinada de medicamentos (Liu *et al.*, 2014). Formulações de nanopartículas (NP) terapêuticas, tais como lipossomas, NP de albumina e micelas poliméricas, já foram aprovadas para tratamento do câncer. Outras formulações utilizando nanocarreadores estão sob investigação clínica, incluindo quimioterapia tradicional, hipertermia, radioterapia, interferência de genes ou RNA (RNAi) e imunoterapia (Tran *et al.*, 2017).

Um fator determinante no sucesso dos nanocarreadores é a internalização efetiva nas células, que tem um papel importante no aprimoramento da retenção dos antitumorais,

garantindo maior permeabilidade, retenção e eficácia terapêutica, principalmente se tratando de antitumorais que atuam em alvos intracelulares. Isto é particularmente importante para macromoléculas, como os RNAi (por exemplo, siRNA e microRNA), que requerem liberação citossólica para bioatividade (Whitehead *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2015). Para melhorar a absorção celular, uma abordagem é funcionalizar os nanocarreadores com ligantes direcionados a reconhecer receptores específicos na superfície da célula tumoral (Shi *et al.*, 2011; Bertrand *et al.*, 2014). Após a internalização, os nanocarreadores devem liberar sua carga terapêutica para difusão através dos compartimentos celulares para alcançar o alvo.

Resveratrol nanoencapsulado e Câncer

Uma das primeiras nanoformulações do RSV foram nanopartículas de quitosana. Esse estudo sugeriu que as nanoformulações de quitosana têm uma liberação sustentada *in vitro* (Yao *et al.*, 2006). Em outro estudo avaliando a citotoxicidade do RSV em células C6 de gliomas de ratos, nanopartículas carregadas com RSV levaram a uma morte celular significativamente maior comparada a uma dose equivalente de RSV livre (Shao *et al.*, 2009). Os autores demonstraram que a incorporação de RSV em nanopartículas baseadas em mPEG-poli (ϵ -caprolactona) leva a uma morte celular significativamente maior a uma dose equivalente de RSV livre.

Outro estudo, também avaliou o efeito antiglioma de nanocápsulas de núcleo lipídico carregadas com RSV tanto *in vitro* quanto *in vivo*. *In vitro*, o RSV nanoencapsulado diminuiu a viabilidade das células de glioma C6 em maior grau do que o RSV isolado, sem toxicidade para as células neuronais saudáveis. Ainda, a formulação nanotecnológica induziu morte celular apoptótica, que foi precedida por uma parada precoce nas fases S e G1 do ciclo celular. Em condições *in vivo*, RSV nanoencapsulado promoveu uma redução acentuada no tamanho do tumor e reduziu a incidência de algumas características associadas a tumores malignos em comparação com o RSV em solução (Figueiró *et al.*, 2013).

Em um estudo envolvendo NPs carregadas com RSV, com base na mistura poli-(ϵ -caprolactona), poli-(D, ácido lático-co-glicólico) e poli (etilenoglicol) para o tratamento do câncer de próstata foi observada a liberação controlada de RSV em pH 6,5 e 7,4, com apenas 55% de RSV liberado nas primeiras 7 horas. No tratamento de células PCa observações por

microscopia confocal revelaram que as NPs foram eficientemente absorvidas pelas linhagens celulares. Além disso, o RSV nanoencapsulado melhorou significativamente a citotoxicidade quando comparado com o RSV livre, demonstrando uma sensibilidade consistente para as células de câncer de próstata, independentes de andrógeno e hormônio-sensíveis (Sanna *et al.*, 2014). Jung e colaboradores utilizaram o RSV em nanopartículas de PEG-PLA e sugeriram que o conjugado suprime o metabolismo da glicose e o crescimento do tumor *in vitro* e *in vivo*. No estudo, células de câncer de cólon CT26 apresentaram um número de células e capacidade de formação de colônias significativamente reduzida (Jung *et al.*, 2015).

A fim de melhorar a baixa biodisponibilidade sistêmica e a absorção celular do RSV, várias estratégias foram adotadas, incluindo pró-fármacos de RSV e o desenvolvimento de sistemas de entrega nanoestruturados. Em particular, as abordagens nanotecnológicas podem fornecer biodisponibilidade melhorada, proteção contra degradação, aumento na penetração intracelular e controle de entrega, e toxicidade potencial reduzida.

ARTIGO 3: Resveratrol: multiple death mechanisms on chronic myeloid leukemia cells**Apresentação**

O conteúdo presente no capítulo 3 ainda não foi publicado, foi excluído nesta versão parcial da tese. Entretanto, foram inseridas a seguir as principais considerações dos conteúdos retirados. No total, foi suprimido o conteúdo presente entre a página 112 até a página 124.

Neste capítulo 3 foi escrita uma revisão da literatura sobre os mecanismos de morte do RSV em células de LMC. O RSV é um antioxidante que tem efeito antitumoral por diferentes mecanismos de morte contra células de LMC, destacando morte induzida por apoptose e via autofagia.

Resveratrol: multiple death mechanisms on chronic myeloid leukemia cells

Samuel Davies¹, Débora Renz Barreto Vianna², Júlia Biz Willig¹, Diogo André Pilger¹, Irene Cledes Kulkamp Guerreiro^{1*}.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

*corresponding author: Irene Cledes Kulkamp-Guerreiro at Av. Ipiranga, 2752, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90610-000, Porto Alegre, Brasil; Tel: +55-51-33085416; E-mail: irene@ufrgs.br

ARTIGO 4: Nanocápsulas de núcleo lipídico contendo Resveratrol reduzem a viabilidade de células K562

Apresentação

O conteúdo presente no capítulo 4 ainda não foi publicado, foi excluído nesta versão parcial da tese. Entretanto, foram inseridas a seguir as principais considerações dos conteúdos retirados. No total, foi suprimido o conteúdo presente entre a página 128 e a página 148.

Neste capítulo 4 foi desenvolvida e caracterizada nanocapsulas de núcleo lipídico contendo RSV. Foi avaliada o efeito antitumoral desta formulação em células K562 de LMC sensíveis e resistentes ao Imatinibe.

O RSV quando nanoencapsulado demosntrou melhor efeito antitumoral, tanto em células sensíveis quanto resistentes ao Imatinibe. Assim o RSV nanoencapsulado surge como uma oportunidade para se buscar novas alternativas de tratamento para a LMC.

Nanocápsulas de núcleo lipídico contendo Resveratrol reduzem a viabilidade de células K562

Samuel Davies¹, Débora Renz Barreto Vianna², Julia Biz Willig¹, Silvia Stanisçuaski Guterres¹, Adriana Raffin Pohlmann¹, Diogo André Pilger¹, Irene Cledes Kulkamp Guerreiro¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

✉Corresponding Author: Irene Cledes Kulkamp Guerreiro

Departamento de Produção de Matéria-prima, Faculdade de Farmácia, UFRGS

Av. Ipiranga 2752, bairro Santana

CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil.

Phone: + 55 51 33085416

E-mail: irenemail@gmail.com

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Discussão geral

A presente tese propôs diferentes aplicações para as nanocápsulas de núcleo lipídico carregadas com os antioxidantes RSV e LA. As propostas de aplicações foram a associação do RSV e LA em uma nanocápsula de núcleo lipídico para aplicação cutânea, com efeito antioxidante e maior estabilidade dos antioxidantes. Esta associação ainda não foi proposta para o uso tópico, apenas para neuro e cardioproteção (Saleh *et al.*, 2014; Cheserek *et al.*, 2016). Também foi proposto o uso de uma nanocápsula de núcleo lipídico carregada com RSV para o tratamento de células K562 de leucemia mielóide crônica, considerando que a utilização de RSV apresentou efeito nesta linhagem celular em estudo prévio (Puissant *et al.*, 2010).

Referente à associação do RSV e LA, foi desenvolvida e validada uma metodologia analítica para a identificação e quantificação simultânea de ambos os antioxidantes publicada no periódico *Drug Analytical Research*, correspondente ao capítulo I desta tese. O método analítico proposto para determinação simultânea de RSV e LA foi desenvolvido sobre parâmetros oficiais (Guideline., 1996; Brasil, 2017) com resultados adequados de especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez. O método desenvolvido pode ser aplicado para a análise de formas farmacêuticas contendo estas substâncias, com finalidade de aplicação industrial, podendo significar menor custo e tempo para as análises.

O uso do RSV ou do LA com atividade antioxidante cosmética já foi descrito na literatura, de forma isolada para cada ativo. O RSV penetra na pele em forma de gradiente, mantendo sua atividade antioxidante (Alonso *et al.*, 2017). O uso de nanoestruturas melhora seu transporte através das membranas assim como aumenta a solubilidade e estabilidade (Caddeo *et al.*, 2015). A aplicação de LA nanoencapsulado em formulações semi-sólidas melhora a estabilidade, atividade antioxidante e características sensoriais das formulações (Külkamp-Guerreiro *et al.*, 2013). Na presente tese, a conanoencapsulação de RSV e LA em uma nanocápsula de núcleo lipídico demonstrou ser uma forma adequada de administração tópica. As nanocápsulas apresentaram boa estabilidade, se mantendo estáveis por 60 dias, além de protegerem ambas substâncias contra a degradação por radiação UVA, o que é relevante no contexto da aplicação tópica. A conanoencapsulação controlou a liberação e permeação dos antioxidantes. Adicionalmente, o LA, quando conanoencapsulado com o RSV,

apresentou melhor controle de sua liberação. Ainda, a conanoencapsulação de RSV e LA em nanocápsulas de núcleo lipídico também pode representar uma maneira eficiente de aumentar a atividade antioxidante desses compostos. Esses achados, em conjunto com a compatibilidade com as células da pele observadas para as nanocápsulas, são ferramentas promissoras visando a aplicações terapêuticas e cosméticas relacionadas ao dano oxidativo.

O uso do RSV no tratamento da linhagem celular K562 de LMC foi explorado na revisão de literatura no capítulo III. Foi possível referenciar que o RSV tem potencial efeito antitumoral nesta linhagem. O RSV apresenta atividade antitumoral por diferentes vias, como a indução de apoptose (Luzi *et al.*, 2004), autofagia (Puissant *et al.*, 2010) e diferenciação eritróide (Yan *et al.*, 2014). O RSV tem efeito antitumoral tanto em células sensíveis como em células resistentes ao imatinibe, fármaco utilizado no tratamento da LMC. Esta atividade é importante, considerando o número de pacientes com LMC que apresentam resistência ao imatinibe. Inicialmente, nestes pacientes, é realizado o aumento da dose de imatinibe, o que gera uma resposta positiva, mas passageira (Chereda e Melo, 2015), e posteriormente, o uso de TKIs de segunda e terceira geração, podendo apresentar um custo muito elevado ao paciente.

O tratamento das células K562 com RSV livre demonstrou significativa redução da viabilidade celular, com um IC50 calculado de 16 μ M. As células tratadas com o RSV nanoencapsulado apresentaram diminuição do IC50 para 1 μ M. Alguns trabalhos tem comprovado uma maior internalização das nanoestruturas, o que pode representar uma maior entrega de fármacos quando comparado com os fármacos livres (Antonow *et al.*, 2017). Este pode ser um dos motivos desta redução significativa do IC50 nas células K562. Importante ressaltar aqui também, a importância de buscar alternativas para reduzir doses de medicamentos que possam apresentar efeitos adversos. Atualmente, além da resistência aos inibidores da tirosinaquinase, vem se discutindo a sua toxicidade no uso em longo prazo. Existem diferenças nos perfis de segurança de cada agente em relação às toxicidades cardiovasculares, metabólicas e pulmonares no tratamento crônico com esta classe terapêutica (Cortes *et al.*, 2018; Medeiros *et al.*, 2018). A associação do RSV em solução ao imatinibe não demonstrou efeito sinérgico nesta associação. Porém, a associação do RSV nanoencapsulado ao imatinibe apresentou um efeito sinérgico a partir de doses 50% menores que o IC50 dos fármacos.

Alem dos efeitos adversos a longo prazo que o imatinibe pode causar, os casos de resistência merecem atenção, uma vez que o aumento de dose gera uma resposta momentânea a resistência, e os TKIs de segunda e terceira geração apresentam um custo muito elevado. Assim, a busca de alternativas para combater a resistência ao imatinibe e alternativas eficazes contra as células resistentes são muito importantes. Neste trabalho, a indução à resistência ao Imatinibe em células K562 foi feita para avaliar o efeito do RSV nestas células (Wilig *et al*, dados não publicados). Quando as células K562 resistentes foram tratadas com imatinibe pode-se observar uma redução do número de células com um IC50 calculado de 26 μ M, e quando estas células foram tratadas com o RSV nanoencapsulado este IC50 cai para 4 μ M. São resultados promissores, porém mais estudos para avaliar o papel do RSV nas células resistentes ao imatinibe são necessários.

Conclusões Gerais

Esta tese defende que formulações nanotecnológicas contendo RSV e LA podem ser utilizadas para a terapia, prevenção de patologias e uso cosmético. Isto se deve às evidências trazidas por este trabalho e a revisão de literatura. As nanocápsulas de núcleo lipídico desenvolvidas com a associação do RSV e LA apresentaram atividade antioxidante otimizada e aumento da estabilidade, quando comparadas com as substâncias em solução. As nanocápsulas de núcleo lipídico contendo RSV foram mais eficazes do que o fármaco em solução na redução da viabilidade celular contra a linhagem K562 de leucemia mieloide crônica, tanto em células sensíveis quanto resistentes ao imatinibe.

Assim, os resultados apresentados nesta qualificação permitem as seguintes conclusões:

Parte I

1. É possível a identificação e quantificação simultânea do RSV e LA, via HPLV-UV, em uma única corrida e comprimento de onda.
2. É viável a co-encapsulação do RSV e do LA em nanocápsulas de núcleo lipídico.
3. A associação RSV e LA nanoencapsulado mostra que há maior estabilidade dos antioxidantes durante o armazenamento e frente à fotodegradação pela radiação UVA.
4. A associação RSV e LA nanoencapsulado apresenta maior atividade antioxidante, na proteção contra a peroxidação lipídica.
5. A associação RSV e LA nanoencapsulada apresenta maior controle na liberação das substâncias e boa permeação em modelo de estrato córneo.
6. A associação do RSV e LA não apresenta citotoxicidade nas condições estudadas.

Parte II

1. RSV apresenta efeito antiproliferativo por diferentes vias em células K562, assim sendo um potencial alvo de estudos para o tratamento da LMC.
2. A nanocápsula aumentou o efeito antiproliferativo do RSV no tratamento de células K562 comparando com o RSV em solução.
3. É possível a associação do RSV-LNC ao imatinibe, sendo que a sua associação apresenta um efeito sinérgico em células sensíveis ao imatinibe.
4. O RSV nanoencapsulado diminui a viabilidade de células K562-R.

ABDELKAREM, H. M.; FADDA, L. M.; KAML, O. R. Alleviation of bone markers in rats induced nano-zinc oxide by quercetin and α -lipolic acid. **Toxicol Mech Methods**, v. 26, n. 9, p. 692-699, Nov 2016. ISSN 1537-6524. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27785948> >.

ADRAIN, C.; MARTIN, S. J. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. **Trends Biochem Sci**, v. 26, n. 6, p. 390-7, Jun 2001. ISSN 0968-0004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11406413> >.

AGGARWAL, B. B. et al. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. **Anticancer Res**, v. 24, n. 5A, p. 2783-840, 2004 Sep-Oct 2004. ISSN 0250-7005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15517885> >.

AHMAD, N. et al. Resveratrol causes WAF-1/p21-mediated G(1)-phase arrest of cell cycle and induction of apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells. **Clin Cancer Res**, v. 7, n. 5, p. 1466-73, May 2001. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11350919> >.

ALMEIDA, A. J.; SOUTO, E. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 59, n. 6, p. 478-90, Jul 2007. ISSN 0169-409X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17543416> >.

ALONSO, C. et al. Skin permeation and antioxidant efficacy of topically applied resveratrol. **Arch Dermatol Res**, v. 309, n. 6, p. 423-431, Aug 2017. ISSN 1432-069X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28389713> >.

ALVAREZ-ROMÁN, R. et al. Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: preparation and photoprotection. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 52, n. 2, p. 191-5, Sep 2001. ISSN 0939-6411. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11522485> >.

ALVAREZ-ROMÁN, R. et al. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. **J Control Release**, v. 99, n. 1, p. 53-62, Sep 2004. ISSN 0168-3659. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15342180> >.

ALVES, M. P. et al. Human skin penetration and distribution of nimesulide from hydrophilic gels containing nanocarriers. **Int J Pharm**, v. 341, n. 1-2, p. 215-20, Aug 2007. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17482392> >.

ANCKAR, J.; SISTONEN, L. Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease. **Annu Rev Biochem**, v. 80, p. 1089-115, 2011. ISSN 1545-4509. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21417720> >.

ANSARI, K. A. et al. Cyclodextrin-based nanosponges for delivery of resveratrol: in vitro characterisation, stability, cytotoxicity and permeation study. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 1, p. 279-86, Mar 2011. ISSN 1530-9932. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21240574> >.

ANTONOW, M. B. et al. Liquid formulation containing doxorubicin-loaded lipid-core nanocapsules: Cytotoxicity in human breast cancer cell line and in vitro uptake mechanism. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 76, p. 374-382, Jul 2017. ISSN 1873-0191. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28482541> >.

ANTUNES, L. M.; TAKAHASHI, C. S. Effects of high doses of vitamins C and E against doxorubicin-induced chromosomal damage in Wistar rat bone marrow cells. **Mutat Res**, v. 419, n. 1-3, p. 137-43, Nov 1998. ISSN 0027-5107. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9804927> >.

ARTS, I. C.; HOLLMAN, P. C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 1 Suppl, p. 317S-325S, Jan 2005. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15640497> >.

ATHAR, M. et al. Multiple molecular targets of resveratrol: Anti-carcinogenic mechanisms. **Arch Biochem Biophys**, v. 486, n. 2, p. 95-102, Jun 2009. ISSN 1096-0384. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19514131> >.

AZIZ, M. H. et al. Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. **Mol Cancer Ther**, v. 5, n. 5, p. 1335-41, May 2006. ISSN 1535-7163. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16731767> >.

BAATOUT, S. et al. Enhanced radiation-induced apoptosis of cancer cell lines after treatment with resveratrol. **Int J Mol Med**, v. 13, n. 6, p. 895-902, Jun 2004. ISSN 1107-3756. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15138632> >.

BACCARANI, M. et al. A review of the European LeukemiaNet recommendations for the management of CML. **Ann Hematol**, v. 94 Suppl 2, p. S141-7, Apr 2015. ISSN 1432-0584. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25814080> >.

BALDWIN, E. L.; OSHEROFF, N. Etoposide, topoisomerase II and cancer. **Curr Med Chem Anticancer Agents**, v. 5, n. 4, p. 363-72, Jul 2005. ISSN 1568-0118. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16101488> >.

BANERJEE MUSTAFI, S.; CHAKRABORTY, P. K.; RAHA, S. Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. **PLoS One**, v. 5, n. 1, p. e8719, Jan 2010. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20090934> >.

BARAN, Y. et al. Alterations of ceramide/sphingosine 1-phosphate rheostat involved in the regulation of resistance to imatinib-induced apoptosis in K562 human chronic myeloid leukemia cells. **J Biol Chem**, v. 282, n. 15, p. 10922-34, Apr 2007. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17303574> >.

BARIL M.B. et al. **Nanotecnologia aplicada aos cosméticos**. 13 2012.

BASTIANETTO, S. et al. Protective action of resveratrol in human skin: possible involvement of specific receptor binding sites. **PLoS One**, v. 5, n. 9, p. e12935, Sep 2010. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20886076> >.

BAUR, J. A. et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 337-42, Nov 2006. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17086191> >.

BAXTER, R. A. Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. **J Cosmet Dermatol**, v. 7, n. 1, p. 2-7, Mar 2008. ISSN 1473-2165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18254804> >.

BECK-BROICHSITTER, M.; NICOLAS, J.; COUVREUR, P. Design attributes of long-circulating polymeric drug delivery vehicles. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 97, n. Pt B, p. 304-17, Nov 2015. ISSN 1873-3441. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25857838> >.

BEITNER, H. Randomized, placebo-controlled, double blind study on the clinical efficacy of a cream containing 5% alpha-lipoic acid related to photoageing of facial skin. **Br J Dermatol**, v. 149, n. 4, p. 841-9, Oct 2003. ISSN 0007-0963. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14616378> >.

BENITA, S. Prevention of topical and ocular oxidative stress by positively charged submicron emulsion. **Biomed Pharmacother**, v. 53, n. 4, p. 193-206, May 1999. ISSN 0753-3322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10392291> >.

BERNARDI, A. et al. The antiproliferative effect of indomethacin-loaded lipid-core nanocapsules in glioma cells is mediated by cell cycle regulation, differentiation, and the inhibition of survival pathways. **Int J Nanomedicine**, v. 8, p. 711-28, 2013. ISSN 1178-2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23440594> >.

BERTRAND, N. et al. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 66, p. 2-25, Feb 2014. ISSN 1872-8294. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24270007> >.

BHAMIDIPATI, P. K. et al. Management of imatinib-resistant patients with chronic myeloid leukemia. **Ther Adv Hematol**, v. 4, n. 2, p. 103-17, Apr 2013. ISSN 2040-6207. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23610618> >.

BHARDWAJ, A. et al. Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB-regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. **Blood**, v. 109, n. 6, p. 2293-302, Mar 2007. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17164350> >.

BIESALSKI, H. K.; OBERMUELLER-JEVIC, U. C. UV light, beta-carotene and human skin--beneficial and potentially harmful effects. **Arch Biochem Biophys**, v. 389, n. 1, p. 1-6, May 2001. ISSN 0003-9861. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11370660> >.

BOBERMIN, L. D. et al. Ammonia-induced oxidative damage in neurons is prevented by resveratrol and lipoic acid with participation of heme oxygenase 1. **Neurotoxicology**, v. 49, p. 28-35, Jul 2015. ISSN 1872-9711. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26003724> >.

BOKOV, A.; CHAUDHURI, A.; RICHARDSON, A. The role of oxidative damage and stress in aging. **Mech Ageing Dev**, v. 125, n. 10-11, p. 811-26, 2004 Oct-Nov 2004. ISSN 0047-6374. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15541775> >.

BOUCHEMAL, K. et al. Synthesis and characterization of polyurethane and poly(ether urethane) nanocapsules using a new technique of interfacial polycondensation combined to spontaneous emulsification. **Int J Pharm**, v. 269, n. 1, p. 89-100, Jan 2004. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698580> >.

BRADAMANTE, S.; BARENGHI, L.; VILLA, A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. **Cardiovasc Drug Rev**, v. 22, n. 3, p. 169-88, 2004. ISSN 0897-5957. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15492766> >.

BRADEEN, H. A. et al. Comparison of imatinib mesylate, dasatinib (BMS-354825), and nilotinib (AMN107) in an N-ethyl-N-nitrosourea (ENU)-based mutagenesis screen: high efficacy of drug combinations. **Blood**, v. 108, n. 7, p. 2332-8, Oct 2006. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16772610> >.

BRASIL. RDC Nº 166, de 24 de Julho de 2017. Guia para validação de métodos analíticos. Diário oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 25/07/2017. 2017.

CADDEO, C. et al. Investigating the interactions of resveratrol with phospholipid vesicle bilayer and the skin: NMR studies and confocal imaging. **Int J Pharm**, v. 484, n. 1-2, p. 138-45, Apr 2015. ISSN 1873-3476. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25708006> >.

CAN, G. et al. Apoptotic effects of resveratrol, a grape polyphenol, on imatinib-sensitive and resistant K562 chronic myeloid leukemia cells. **Anticancer Res**, v. 32, n. 7, p. 2673-8, Jul 2012. ISSN 1791-7530. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22753725> >.

CASAGRANDE, R. et al. In vitro evaluation of quercetin cutaneous absorption from topical formulations and its functional stability by antioxidant activity. **Int J Pharm**, v. 328, n. 2, p. 183-90, Jan 2007. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16959452> >.

CHAI, S.; TO, K. K.; LIN, G. Circumvention of multi-drug resistance of cancer cells by Chinese herbal medicines. **Chin Med**, v. 5, p. 26, Jul 2010. ISSN 1749-8546. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20653978> >.

CHAKRABORTY, P. K. et al. Resveratrol induces apoptosis in K562 (chronic myelogenous leukemia) cells by targeting a key survival protein, heat shock protein 70. **Cancer Sci**, v. 99, n. 6, p.

1109-16, Jun 2008. ISSN 1349-7006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18429957> >.

CHARÃO, M. F. et al. Caenorhabditis elegans as an alternative in vivo model to determine oral uptake, nanotoxicity, and efficacy of melatonin-loaded lipid-core nanocapsules on paraquat damage. **Int J Nanomedicine**, v. 10, p. 5093-106, 2015. ISSN 1178-2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26300641> >.

CHEREDA, B.; MELO, J. V. Natural course and biology of CML. **Ann Hematol**, v. 94 Suppl 2, p. S107-21, Apr 2015. ISSN 1432-0584. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25814077> >.

CHESEREK, M. J. et al. Cardioprotective effects of lipoic acid, quercetin and resveratrol on oxidative stress related to thyroid hormone alterations in long-term obesity. **J Nutr Biochem**, v. 33, p. 36-44, 07 2016. ISSN 1873-4847. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27260466> >.

CHIU, A.; KIMBALL, A. B. Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. **Br J Dermatol**, v. 149, n. 4, p. 681-91, Oct 2003. ISSN 0007-0963. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14616358> >.

CONTRI, R. V. et al. Simultaneous control of capsaicinoids release from polymeric nanocapsules. **J Nanosci Nanotechnol**, v. 11, n. 3, p. 2398-406, Mar 2011. ISSN 1533-4880. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21449399> >.

CORADINI, K. et al. Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their in vitro antioxidant effects. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 88, n. 1, p. 178-85, Sep 2014. ISSN 1873-3441. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24780440> >.

CORTES, J.; REA, D.; LIPTON, J. H. Treatment-free remission with first- and second-generation tyrosine kinase inhibitors. **Am J Hematol**, Nov 2018. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30394563> >.

CORTES, J. E. et al. Philadelphia chromosome-negative chronic myelogenous leukemia with rearrangement of the breakpoint cluster region. Long-term follow-up results. **Cancer**, v. 75, n. 2, p. 464-70, Jan 1995. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7812917> >.

CORTES, J. E.; TALPAZ, M.; KANTARJIAN, H. Chronic myelogenous leukemia: a review. **Am J Med**, v. 100, n. 5, p. 555-70, May 1996. ISSN 0002-9343. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8644769> >.

CRIMI, E. et al. The role of oxidative stress in adult critical care. **Free Radic Biol Med**, v. 40, n. 3, p. 398-406, Feb 2006. ISSN 0891-5849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16443154> >.

DAS, S.; NG, K. Y. Resveratrol-loaded calcium-pectinate beads: effects of formulation parameters on drug release and bead characteristics. **J Pharm Sci**, v. 99, n. 2, p. 840-60, Feb 2010. ISSN 1520-6017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19653272> >.

DAUDT, R. M. et al. **Nano cápsulas como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos.** Ciência e Cultura. 65: 65 p. 2013.

DELMAS, D.; SOLARY, E.; LATRUFFE, N. Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe. **Curr Med Chem**, v. 18, n. 8, p. 1100-21, 2011. ISSN 1875-533X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21291372> >.

DETONI, C. B. et al. Photostability and skin penetration of different E-resveratrol-loaded supramolecular structures. **Photochem Photobiol**, v. 88, n. 4, p. 913-21, 2012 Jul-Aug 2012. ISSN 1751-1097. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22443373> >.

DONG, Y. et al. H2AX phosphorylation regulated by p38 is involved in Bim expression and apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells induced by imatinib. **Apoptosis**, v. 19, n. 8, p. 1281-

92, Aug 2014. ISSN 1573-675X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24830786> >.

DREHER, D.; JUNOD, A. F. Role of oxygen free radicals in cancer development. **Eur J Cancer**, v. 32A, n. 1, p. 30-8, Jan 1996. ISSN 0959-8049. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8695238> >.

DRUKER, B. J. et al. Chronic myelogenous leukemia. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, p. 111-35, 2002. ISSN 1520-4391. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12446421> >.

DUMITRIU, S.; POPA, V. I. **Polymeric Biomaterials. Structure and function. vol. 1**. Third edition. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2013. ISBN 9781420094718 (electronic bk.) 1420094718 (electronic bk.) 9781420094701 (v. 1 ; alk. paper).

EL-DOMYATI, M. et al. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. **Exp Dermatol**, v. 11, n. 5, p. 398-405, Oct 2002. ISSN 0906-6705. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12366692> >.

ELIASSON, L. et al. Exploring chronic myeloid leukemia patients' reasons for not adhering to the oral anticancer drug imatinib as prescribed. **Leuk Res**, v. 35, n. 5, p. 626-30, May 2011. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21095002> >.

EPSTEIN, H. A. The next frontier of sunscreen protection: beyond sunscreens. **Skinmed**, v. 9, n. 4, p. 247-50, 2011 Jul-Aug 2011. ISSN 1540-9740. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21980710> >.

FADERL, S.; KANTARJIAN, H. M.; TALPAZ, M. Chronic myelogenous leukemia: update on biology and treatment. **Oncology (Williston Park)**, v. 13, n. 2, p. 169-80; discussion 181, 184, Feb 1999. ISSN 0890-9091. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10079468> >.

FENG, Z. et al. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 102, n. 23, p. 8204-9, Jun 2005. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15928081> >.

FIGUEIRÓ, F. et al. Resveratrol-loaded lipid-core nanocapsules treatment reduces in vitro and in vivo glioma growth. **J Biomed Nanotechnol**, v. 9, n. 3, p. 516-26, Mar 2013. ISSN 1550-7033. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23621009> >.

FOTAKIS, G.; TIMBRELL, J. A. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. **Toxicol Lett**, v. 160, n. 2, p. 171-7, Jan 2006. ISSN 0378-4274. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16111842> >.

FRIEDRICH, R. B. et al. Skin penetration behavior of lipid-core nanocapsules for simultaneous delivery of resveratrol and curcumin. **Eur J Pharm Sci**, v. 78, p. 204-13, Oct 2015. ISSN 1879-0720. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26215463> >.

FROZZA, R. L. et al. Characterization of trans-resveratrol-loaded lipid-core nanocapsules and tissue distribution studies in rats. **J Biomed Nanotechnol**, v. 6, n. 6, p. 694-703, Dec 2010. ISSN 1550-7033. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21361135> >.

GEARY, C. G. The story of chronic myeloid leukaemia. **Br J Haematol**, v. 110, n. 1, p. 2-11, Jul 2000. ISSN 0007-1048. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10930974> >.

GIARDINA, S. et al. [Efficacy study in vitro: assessment of the properties of resveratrol and resveratrol + N-acetyl-cysteine on proliferation and inhibition of collagen activity]. **Minerva Ginecol**, v. 62, n. 3, p. 195-201, Jun 2010. ISSN 0026-4784. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20595944> >.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clin Dermatol**, v. 26, n. 6, p. 614-26, 2008 Nov-Dec 2008. ISSN 0738-081X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18940542> >.

GRAF, J. Antioxidants and skin care: the essentials. **Plast Reconstr Surg**, v. 125, n. 1, p. 378-83, Jan 2010. ISSN 1529-4242. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20048629> >.

GRIFFIN, J. D. et al. Differentiation patterns in the blastic phase of chronic myeloid leukemia. **Blood**, v. 61, n. 1, p. 85-91, Jan 1983. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6571717> >.

GRIFFITHS, R. E. et al. The ins and outs of human reticulocyte maturation: autophagy and the endosome/exosome pathway. **Autophagy**, v. 8, n. 7, p. 1150-1, Jul 2012. ISSN 1554-8635. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22659916> >.

GUERTIN, D. A.; SABATINI, D. M. Defining the role of mTOR in cancer. **Cancer Cell**, v. 12, n. 1, p. 9-22, Jul 2007. ISSN 1535-6108. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17613433> >.

GUIDELINE., I. H. T. **Validation of Analytical Procedures: Methodology. United States of America**. 1996.

GUILHOT, F. Sustained Durability of Responses Plus High Rates of Cytogenetic Responses Result in Long-Term Benefit for Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia (CML-CP) Treated with Imatinib (IM) Therapy: Update from the IRIS Study. **Blood**, v. 104, n. 11, p. 21, 2004. Disponível em: < <http://www.bloodjournal.org/content/104/11/21.abstract> >.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 147-57, 2007. ISSN 1177-3928. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21901071> >.

HALLIWELL, B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. **Drugs Aging**, v. 18, n. 9, p. 685-716, 2001. ISSN 1170-229X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11599635> >.

HANNUN, Y. A.; OBEID, L. M. The Ceramide-centric universe of lipid-mediated cell regulation: stress encounters of the lipid kind. **J Biol Chem**, v. 277, n. 29, p. 25847-50, Jul 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12011103> >.

HARDIE, D. G. The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream. **J Cell Sci**, v. 117, n. Pt 23, p. 5479-87, Nov 2004. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15509864> >.

HARIKUMAR, K. B.; AGGARWAL, B. B. Resveratrol: a multitargeted agent for age-associated chronic diseases. **Cell Cycle**, v. 7, n. 8, p. 1020-35, Apr 2008. ISSN 1551-4005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18414053> >.

HARIKUMAR, K. B. et al. Resveratrol, a multitargeted agent, can enhance antitumor activity of gemcitabine in vitro and in orthotopic mouse model of human pancreatic cancer. **Int J Cancer**, v. 127, n. 2, p. 257-68, Jul 2010. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19908231> >.

HEHLMANN, R. et al. Chronic myeloid leukaemia. **Lancet**, v. 370, n. 9584, p. 342-50, Jul 2007. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17662883> >.

HERTOG, M. G. et al. Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. **Am J Clin Nutr**, v. 65, n. 5, p. 1489-94, May 1997. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9129481> >.

HILL, J. M.; MEEHAN, K. R. Chronic myelogenous leukemia. Curable with early diagnosis and treatment. **Postgrad Med**, v. 106, n. 3, p. 149-52, 157-9, Sep 1999. ISSN 0032-5481. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10494272> >.

HILLAIREAU, H.; COUVREUR, P. Nanocarriers' entry into the cell: relevance to drug delivery. **Cell Mol Life Sci**, v. 66, n. 17, p. 2873-96, Sep 2009. ISSN 1420-9071. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19499185> >.

HOCHHAUS, A. Cytogenetic and molecular mechanisms of resistance to imatinib. **Semin Hematol**, v. 40, n. 2 Suppl 2, p. 69-79, Apr 2003. ISSN 0037-1963. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12783379> >.

HOFFMEISTER, C. R. et al. Hydrogels containing redispersible spray-dried melatonin-loaded nanocapsules: a formulation for transdermal-controlled delivery. **Nanoscale Res Lett**, v. 7, n. 1, p. 251, May 2012. ISSN 1556-276X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22587614> >.

HOLMQUIST, L. et al. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. **Pharmacol Ther**, v. 113, n. 1, p. 154-64, Jan 2007. ISSN 0163-7258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16989905> >.

HOWELLS, L. M. et al. Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases--safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. **Cancer Prev Res (Phila)**, v. 4, n. 9, p. 1419-25, Sep 2011. ISSN 1940-6215. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21680702> >.

HUNG, C. F. et al. Delivery of resveratrol, a red wine polyphenol, from solutions and hydrogels via the skin. **Biol Pharm Bull**, v. 31, n. 5, p. 955-62, May 2008. ISSN 0918-6158. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18451526> >.

HUSSAIN, A. R. et al. Cross-talk between NFkB and the PI3-kinase/AKT pathway can be targeted in primary effusion lymphoma (PEL) cell lines for efficient apoptosis. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e39945, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22768179> >.

ICHIHASHI, M. et al. UV-induced skin damage. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 21-39, Jul 2003. ISSN 0300-483X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12821280> >.

INCA. **Instituto nacional do Câncer**. <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-melanoma>: Ministério da Saude. 2018.

JABBOUR, E.; KANTARJIAN, H. Chronic myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, monitoring, and management. **Am J Hematol**, v. 87, n. 11, p. 1037-45, Nov 2012. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23090888> >.

JABBOUR E and KANTARJIAN H. Chronic myeloid leukemia: 2016 update on diagnosis, therapy, and monitoring. **Am J Hematol**, v. 91, n. 2, p. 252-65, Feb 2016. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26799612> >.

JANG, J. H.; SURH, Y. J. Protective effect of resveratrol on beta-amyloid-induced oxidative PC12 cell death. **Free Radic Biol Med**, v. 34, n. 8, p. 1100-10, Apr 2003. ISSN 0891-5849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12684095> >.

JANG, M. et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science**, v. 275, n. 5297, p. 218-20, Jan 1997. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8985016> >.

JIANG, H. et al. Autophagy pathways in glioblastoma. **Methods Enzymol**, v. 453, p. 273-86, 2009. ISSN 1557-7988. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19216911> >.

JIANG H. et al. Allogeneic hematopoietic SCT in combination with tyrosine kinase inhibitor treatment compared with TKI treatment alone in CML blast crisis. **Bone Marrow Transplant**, v. 49, n. 9, p. 1146-54, Sep 2014. ISSN 1476-5365. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25046218> >.

JOHNSON, J. J. et al. Enhancing the bioavailability of resveratrol by combining it with piperine. **Mol Nutr Food Res**, v. 55, n. 8, p. 1169-76, Aug 2011. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21714124> >.

JUNG, K. H. et al. Resveratrol-loaded polymeric nanoparticles suppress glucose metabolism and tumor growth in vitro and in vivo. **Int J Pharm**, v. 478, n. 1, p. 251-257, Jan 2015. ISSN 1873-3476. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25445992> >.

JÄGER, A. et al. Physico-chemical characterization of nanocapsule polymeric wall using fluorescent benzazole probes. **Int J Pharm**, v. 338, n. 1-2, p. 297-305, Jun 2007. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17331683> >.

KALIA, Y. N.; GUY, R. H. Modeling transdermal drug release. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 48, n. 2-3, p. 159-72, Jun 2001. ISSN 0169-409X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11369080> >.

KANTARJIAN, H. et al. High-dose imatinib mesylate therapy in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic phase chronic myeloid leukemia. **Blood**, v. 103, n. 8, p. 2873-8, Apr 2004. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15070658> >.

KANTARJIAN, H. M. et al. Chronic myelogenous leukemia: a concise update. **Blood**, v. 82, n. 3, p. 691-703, Aug 1993. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8338938> >.

KANTARJIAN H.M. et al. Characteristics of accelerated disease in chronic myelogenous leukemia. **Cancer**, v. 61, n. 7, p. 1441-6, Apr 1988. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3162181> >.

KARANAS, A.; SILVER, R. T. Characteristics of the terminal phase of chronic granulocytic leukemia. **Blood**, v. 32, n. 3, p. 445-59, Sep 1968. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4970948> >.

KARTAL, M. et al. Resveratrol triggers apoptosis through regulating ceramide metabolizing genes in human K562 chronic myeloid leukemia cells. **Nutr Cancer**, v. 63, n. 4, p. 637-44, 2011. ISSN 1532-7914. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21500096> >.

KHANDELWAL, A. R. et al. Resveratrol and quercetin interact to inhibit neointimal hyperplasia in mice with a carotid injury. **J Nutr**, v. 142, n. 8, p. 1487-94, Aug 2012. ISSN 1541-6100. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22718033> >.

KIM, B. K. et al. **Preparation of resveratrol-loaded poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles by oil-in-water emulsion solvent evaporation method.** 18: 157-160 p. 2009.

KIM, I.; HE, Y. Y. Targeting the AMP-Activated Protein Kinase for Cancer Prevention and Therapy. **Front Oncol**, v. 3, p. 175, 2013. ISSN 2234-943X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23875169> >.

KISKOVÁ, T. et al. A combination of resveratrol and melatonin exerts chemopreventive effects in N-methyl-N-nitrosourea-induced rat mammary carcinogenesis. **Eur J Cancer Prev**, v. 21, n. 2, p. 163-70, Mar 2012. ISSN 1473-5709. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22044852> >.

KNEKT, P. et al. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. **BMJ**, v. 312, n. 7029, p. 478-81, Feb 1996. ISSN 0959-8138. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8597679> >.

KNUTSON, M. D.; LEEUWENBURGH, C. Resveratrol and novel potent activators of SIRT1: effects on aging and age-related diseases. **Nutr Rev**, v. 66, n. 10, p. 591-6, Oct 2008. ISSN 1753-4887. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18826454> >.

KO, J. H. et al. The Role of Resveratrol in Cancer Therapy. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 12, Dec 2017. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29194365> >.

KOHEN, R. Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress--new approaches for their evaluation. **Biomed Pharmacother**, v. 53, n. 4, p. 181-92, May 1999. ISSN 0753-3322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10392290> >.

KOPP, P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? **Eur J Endocrinol**, v. 138, n. 6, p. 619-20, Jun 1998. ISSN 0804-4643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9678525> >.

KÜLKAMP, I. C. et al. **Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea**. vol.32: 2078-2084 p. 2009.

KÜLKAMP, I. C. et al. Nanoencapsulation improves the in vitro antioxidant activity of lipoic acid. **J Biomed Nanotechnol**, v. 7, n. 4, p. 598-607, Aug 2011. ISSN 1550-7033. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21870465> >.

KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C. et al. Evaluation of lipoic acid topical application on rats skin wound healing. **Acta Cir Bras**, v. 28, n. 10, p. 708-15, Oct 2013. ISSN 1678-2674. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24114299> >.

LA PORTE, C. et al. Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. **Clin Pharmacokinet**, v. 49, n. 7, p. 449-54, Jul 2010. ISSN 1179-1926. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20528005> >.

LAMSON, D. W.; BRIGNALL, M. S. Antioxidants in cancer therapy; their actions and interactions with oncologic therapies. **Altern Med Rev**, v. 4, n. 5, p. 304-29, Oct 1999. ISSN 1089-5159. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10559547> >.

LANG, T. et al. Aut7p and Aut7p, two novel microtubule-associated proteins are essential for delivery of autophagic vesicles to the vacuole. **EMBO J**, v. 17, n. 13, p. 3597-607, Jul 1998. ISSN 0261-4189. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9649430> >.

LANGCAKE, P.; PRYCE, R. J. A new class of phytoalexins from grapevines. **Experientia**, v. 33, n. 2, p. 151-2, Feb 1977. ISSN 0014-4754. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/844529> >.

LEE, J.; LEE, D. G. Novel antifungal mechanism of resveratrol: apoptosis inducer in *Candida albicans*. **Curr Microbiol**, v. 70, n. 3, p. 383-9, Mar 2015. ISSN 1432-0991. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25413604> >.

LEONARD, S. S. et al. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 309, n. 4, p. 1017-26, Oct 2003. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13679076> >.

LEVINE, B.; YUAN, J. Autophagy in cell death: an innocent convict? **J Clin Invest**, v. 115, n. 10, p. 2679-88, Oct 2005. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16200202> >.

LI, T.; WANG, W. [Antileukemic mechanism of resveratrol in vitro and in mice bearing L1210-tumor]. **Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao**, v. 6, n. 12, p. 1267-74, Dec 2008. ISSN 1672-1977. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19063842> >.

LIANG, L. et al. Pharmacokinetics, tissue distribution and excretion study of resveratrol and its prodrug 3,5,4'-tri-O-acetylresveratrol in rats. **Phytomedicine**, v. 20, n. 6, p. 558-63, Apr 2013. ISSN 1618-095X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23351959> >.

LIAO, H. F. et al. Sonic hedgehog signaling regulates Bcr-Abl expression in human chronic myeloid leukemia cells. **Biomed Pharmacother**, v. 66, n. 5, p. 378-83, Jul 2012. ISSN 1950-6007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22397755> >.

LIEGL-ATZWANGER, B.; FLETCHER, J. A.; FLETCHER, C. D. Gastrointestinal stromal tumors. **Virchows Arch**, v. 456, n. 2, p. 111-27, Feb 2010. ISSN 1432-2307. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20165865> >.

LIM, H. W.; DRAELOS, Z. K. **Clinical guide to sunscreens and photoprotection**. New York, NY: Informa Healthcare, 2009. ISBN 9781420080841 (cloth)

LIU, J. et al. pH-sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy. **Biotechnol Adv**, v. 32, n. 4, p. 693-710, 2014 Jul-Aug 2014. ISSN 1873-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24309541> >.

LIU, J.; MOHANDAS, N.; AN, X. Membrane assembly during erythropoiesis. **Curr Opin Hematol**, v. 18, n. 3, p. 133-8, May 2011. ISSN 1531-7048. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21372707> >.

LIU, S. et al. Recombinant expression and evaluation of the lipoyl domains of the dihydrolipoyl acetyltransferase component of the human pyruvate dehydrogenase complex. **Arch Biochem Biophys**, v. 316, n. 2, p. 926-40, Feb 1995. ISSN 0003-9861. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7864652> >.

LIU, Y. et al. Histone H2AX is a mediator of gastrointestinal stromal tumor cell apoptosis following treatment with imatinib mesylate. **Cancer Res**, v. 67, n. 6, p. 2685-92, Mar 2007. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17363589> >.

LODGE, J. et al. **Natural sources of lipoic acid: Determination of lipoyllysine released from protease-digested tissues by high performance liquid chromatography incorporating electrochemical detection**. 1997. 3-11.

LONGSTRETH, J. et al. Health risks. **J Photochem Photobiol B**, v. 46, n. 1-3, p. 20-39, Oct 1998. ISSN 1011-1344. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9894351> >.

LUCAS-ABELLÁN, C. et al. Cyclodextrins as resveratrol carrier system. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 39-44, 2007/01/01/ 2007. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606008545> >.

LUZI, C. et al. Differential sensitivity to resveratrol-induced apoptosis of human chronic myeloid (K562) and acute lymphoblastic (HSB-2) leukemia cells. **Biochem Pharmacol**, v. 68, n. 10, p. 2019-30, Nov 2004. ISSN 0006-2952. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15476673> >.

LYDON, N. B.; DRUKER, B. J. Lessons learned from the development of imatinib. **Leuk Res**, v. 28 Suppl 1, p. S29-38, May 2004. ISSN 0145-2126. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15036939> >.

MAHATTANATAWEE, K. et al. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. **J Agric Food Chem**, v. 54, n. 19, p. 7355-63, Sep 2006. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968105> >.

MALHOTRA, A.; NAIR, P.; DHAWAN, D. K. Curcumin and resveratrol synergistically stimulate p21 and regulate cox-2 by maintaining adequate zinc levels during lung carcinogenesis. **Eur J Cancer Prev**, v. 20, n. 5, p. 411-6, Sep 2011. ISSN 1473-5709. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633290> >.

MARKS, D. B.; MARKS, A. D.; SMITH, C. M. **Basic medical biochemistry : a clinical approach**. Baltimore ; London: Williams & Wilkins, 1996. ISBN 0683230107

MATHEW, R. et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. **Cell**, v. 137, n. 6, p. 1062-75, Jun 2009. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19524509> >.

MAYER, M. P.; BUKAU, B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. **Cell Mol Life Sci**, v. 62, n. 6, p. 670-84, Mar 2005. ISSN 1420-682X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15770419> >.

MEDEIROS, B. C.; POSSICK, J.; FRADLEY, M. Cardiovascular, pulmonary, and metabolic toxicities complicating tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia: Strategies for monitoring, detecting, and managing. **Blood Rev**, v. 32, n. 4, p. 289-299, Jul 2018. ISSN 1532-1681. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29454474> >.

MEINKE, M. C. et al. Radical protection by differently composed creams in the UV/VIS and IR spectral ranges. **Photochem Photobiol**, v. 89, n. 5, p. 1079-84, 2013 Sep-Oct 2013. ISSN 1751-1097. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23844556> >.

MENG, J. et al. Combination Therapy using Co-encapsulated Resveratrol and Paclitaxel in Liposomes for Drug Resistance Reversal in Breast Cancer Cells in vivo. **Sci Rep**, v. 6, p. 22390, Mar 2016. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26947928> >.

MENON, G. K. New insights into skin structure: scratching the surface. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 54 Suppl 1, p. S3-17, Nov 2002. ISSN 0169-409X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460712> >.

MERTINS, O. et al. Production of soybean phosphatidylcholine-chitosan nanovesicles by reverse phase evaporation: a step by step study. **Chem Phys Lipids**, v. 138, n. 1-2, p. 29-37, Dec 2005. ISSN 0009-3084. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16144696> >.

MILLER, R. A. et al. Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 66, n. 2, p. 191-201, Feb 2011. ISSN 1758-535X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20974732> >.

MIZUSHIMA, N. et al. A protein conjugation system essential for autophagy. **Nature**, v. 395, n. 6700, p. 395-8, Sep 1998. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9759731> >.

MIZUTANI, N. et al. Resveratrol-induced transcriptional up-regulation of ASMPase (SMPD1) of human leukemia and cancer cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 470, n. 4, p. 851-6, Feb 2016. ISSN 1090-2104. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26809095> >.

MOINI, H.; PACKER, L.; SARIS, N. E. Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 182, n. 1, p. 84-90, Jul 2002. ISSN 0041-008X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12127266> >.

MOROTTI, A. et al. NF-kB inhibition as a strategy to enhance etoposide-induced apoptosis in K562 cell line. **Am J Hematol**, v. 81, n. 12, p. 938-45, Dec 2006. ISSN 0361-8609. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16960866> >.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 54 Suppl 1, p. S131-55, Nov 2002. ISSN 0169-409X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460720> >.

NICHOLS, J. A.; KATIYAR, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Arch Dermatol Res**, v. 302, n. 2, p. 71-83, Mar 2010. ISSN 1432-069X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19898857> >.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radic Biol Med**, v. 49, n. 4, p. 503-15, Aug 2010. ISSN 1873-4596. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20416370> >.

NOWELL, P. C. The minute chromosome (Ph1) in chronic granulocytic leukemia. **Blut**, v. 8, p. 65-6, Apr 1962. ISSN 0006-5242. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14480647> >.

NYLANDSTED, J. et al. Selective depletion of heat shock protein 70 (Hsp70) activates a tumor-specific death program that is independent of caspases and bypasses Bcl-2. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 14, p. 7871-6, Jul 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10884417> >.

OBAGI, Z. E. **Restauração e rejuvenescimento da pele**. 2004.

OGATA, M. et al. Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic reticulum stress. **Mol Cell Biol**, v. 26, n. 24, p. 9220-31, Dec 2006. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030611> >.

PACKER, L.; CADENAS, E. Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling. **J Clin Biochem Nutr**, v. 48, n. 1, p. 26-32, Jan 2011. ISSN 1880-5086. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21297908> >.

PACKER, L.; VALACCHI, G. Antioxidants and the response of skin to oxidative stress: vitamin E as a key indicator. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol**, v. 15, n. 5, p. 282-90, 2002 Sep-Oct 2002. ISSN 1422-2868. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12239421> >.

PACKER, L.; WITT, E. H.; TRITSCHLER, H. J. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. **Free Radic Biol Med**, v. 19, n. 2, p. 227-50, Aug 1995. ISSN 0891-5849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7649494> >.

PALLOTTA, R. et al. Tratamento da recidiva da leucemia mieloide crônica após transplante de medula óssea alogênico utilizando mesilato de imatinibe: relato de três casos. **28: 157-160 p.** 2006.

PALUMBO, M. et al. Improved antioxidant effect of idebenone-loaded polyethyl-2-cyanoacrylate nanocapsules tested on human fibroblasts. **Pharm Res**, v. 19, n. 1, p. 71-8, Jan 2002. ISSN 0724-8741. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11837703> >.

PASCA DI MAGLIANO, M.; HEBROK, M. Hedgehog signalling in cancer formation and maintenance. **Nat Rev Cancer**, v. 3, n. 12, p. 903-11, Dec 2003. ISSN 1474-175X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14737121> >.

PATRAVALE, V. B.; MANDAWGADE, S. D. Novel cosmetic delivery systems: an application update. **Int J Cosmet Sci**, v. 30, n. 1, p. 19-33, Feb 2008. ISSN 1468-2494. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18377627> >.

PATTINGRE, S. et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. **Cell**, v. 122, n. 6, p. 927-39, Sep 2005. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16179260> >.

PEARSON, K. J. et al. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. **Cell Metab**, v. 8, n. 2, p. 157-68, Aug 2008. ISSN 1932-7420. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18599363> >.

PERUGINI, P. et al. Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate. **Int J Pharm**, v. 246, n. 1-2, p. 37-45, Oct 2002. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12270607> >.

PETROULAKIS, E. et al. mTOR signaling: implications for cancer and anticancer therapy. **Br J Cancer**, v. 96 Suppl, p. R11-5, 2007. ISSN 0007-0920. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17393579> >.

PEZZUTO, J. M. The phenomenon of resveratrol: redefining the virtues of promiscuity. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1215, p. 123-30, Jan 2011. ISSN 1749-6632. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21261650> >.

PINNELL, S. R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **J Am Acad Dermatol**, v. 48, n. 1, p. 1-19; quiz 20-2, Jan 2003. ISSN 0190-9622. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12522365> >.

PIÑEIRO, Z.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Determination of trans-resveratrol in grapes by pressurised liquid extraction and fast high-performance liquid chromatography. **J Chromatogr A**, v. 1110, n. 1-2, p. 61-5, Mar 2006. ISSN 0021-9673. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16464455> >.

POCALY, M. et al. Overexpression of the heat-shock protein 70 is associated to imatinib resistance in chronic myeloid leukemia. **Leukemia**, v. 21, n. 1, p. 93-101, Jan 2007. ISSN 0887-6924. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17109025> >.

PODDA, M. et al. Kinetic study of cutaneous and subcutaneous distribution following topical application of [7,8-14C]rac-alpha-lipoic acid onto hairless mice. **Biochem Pharmacol**, v. 52, n. 4, p. 627-33, Aug 1996. ISSN 0006-2952. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8759036> >.

PODDA, M. et al. Alpha-lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 204, n. 1, p. 98-104, Oct 1994. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7945398> >.

POLETTI, F. S. et al. Fluorescent-Labeled Poly(ϵ -caprolactone) Lipid-Core Nanocapsules: Synthesis, Physicochemical Properties and Macrophage Uptake. **Journal of Colloid Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 89-98, // 2012. Disponível em: < <https://www.ingentaconnect.com/content/asp/jcsb/2012/00000001/00000001/art00011> >. Disponível em: < <https://doi.org/10.1166/jcsb.2012.1015> >.

POPAT, R. et al. A phase 2 study of SRT501 (resveratrol) with bortezomib for patients with relapsed and or refractory multiple myeloma. **Br J Haematol**, v. 160, n. 5, p. 714-7, Mar 2013. ISSN 1365-2141. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23205612> >.

PUISSANT, A.; AUBERGER, P. AMPK- and p62/SQSTM1-dependent autophagy mediate resveratrol-induced cell death in chronic myelogenous leukemia. **Autophagy**, v. 6, n. 5, p. 655-7, Jul 2010. ISSN 1554-8635. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20458181> >.

PUISSANT, A. et al. Imatinib mesylate-resistant human chronic myelogenous leukemia cell lines exhibit high sensitivity to the phytoalexin resveratrol. **FASEB J**, v. 22, n. 6, p. 1894-904, Jun 2008. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18245170> >.

PUISSANT, A. et al. Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. **Cancer Res**, v. 70, n. 3, p. 1042-52, Feb 2010. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20103647> >.

PULLEN, N.; THOMAS, G. The modular phosphorylation and activation of p70s6k. **FEBS Lett**, v. 410, n. 1, p. 78-82, Jun 1997. ISSN 0014-5793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9247127> >.

QUINTÁS-CARDAMA, A.; KANTARJIAN, H. M.; CORTES, J. E. Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. **Cancer Control**, v. 16, n. 2, p. 122-31, Apr 2009. ISSN 1526-2359. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19337198> >.

RADICH, J. P. How I monitor residual disease in chronic myeloid leukemia. **Blood**, v. 114, n. 16, p. 3376-81, Oct 2009. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19661271> >.

RATNAM, D. V. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **J Control Release**, v. 113, n. 3, p. 189-207, Jul 2006. ISSN 0168-3659. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16790290> >.

REDAELLI, A. et al. Clinical and epidemiologic burden of chronic myelogenous leukemia. **Expert Rev Anticancer Ther**, v. 4, n. 1, p. 85-96, Feb 2004. ISSN 1473-7140. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14748660> >.

RENAUD, S. C. et al. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. **Epidemiology**, v. 9, n. 2, p. 184-8, Mar 1998. ISSN 1044-3983. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9504288> >.

RIJNKELS, J. M. et al. Photoprotection by antioxidants against UVB-radiation-induced damage in pig skin organ culture. **Radiat Res**, v. 159, n. 2, p. 210-7, Feb 2003. ISSN 0033-7587. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12537526> >.

RODRIGUES, S. F. et al. Lipid-Core Nanocapsules Act as a Drug Shuttle Through the Blood Brain Barrier and Reduce Glioblastoma After Intravenous or Oral Administration. **J Biomed Nanotechnol**, v. 12, n. 5, p. 986-1000, May 2016. ISSN 1550-7033. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27305820> >.

SALEH, M. C. et al. Co-administration of resveratrol and lipoic acid, or their synthetic combination, enhances neuroprotection in a rat model of ischemia/reperfusion. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e87865, 2014. ISSN 1932-6203.

SANNA, V. et al. Single-step green synthesis and characterization of gold-conjugated polyphenol nanoparticles with antioxidant and biological activities. **Int J Nanomedicine**, v. 9, p. 4935-51, 2014. ISSN 1178-2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25364251> >.

SATO, E. et al. Introduction of second-generation tyrosine kinase inhibitors may reduce the prognostic impact of high-risk patients, according to the European treatment and outcome study (EUTOS) score. **Leuk Lymphoma**, v. 59, n. 5, p. 1105-1112, May 2018. ISSN 1029-2403. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28838287> >.

SAVAGE, D. G.; ANTMAN, K. H. Imatinib mesylate--a new oral targeted therapy. **N Engl J Med**, v. 346, n. 9, p. 683-93, Feb 2002. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11870247> >.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 56, n. 3, p. 501-5, Nov 2003. ISSN 0939-6411. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14602195> >.

SCHAFFAZICK, S. R. et al.. Development of nanocapsule suspensions and nanocapsule spray-dried powders containing melatonin. **17**: 562-570 p. 2006.

SEGALL, A. et al. Stability study of lipoic acid in the presence of vitamins A and E in o/w emulsions for cosmetic application. **J Cosmet Sci**, v. 55, n. 5, p. 449-61, 2004 Sep-Oct 2004. ISSN 1525-7886. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15608995> >.

SHAATH, N. A. Ultraviolet filters. **Photochem Photobiol Sci**, v. 9, n. 4, p. 464-9, Apr 2010. ISSN 1474-9092. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20354639> >.

SHAH, K.; PARIKH, S.; RAWAL, R. Tyrosine Kinase Inhibitors in Ph+ Chronic Myeloid Leukemia Therapy: a Review. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 17, n. 7, p. 3025-33, 2016. ISSN 2476-762X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27509925> >.

SHAI, A.; MAIBACH, H. I.; BARAN, R. **Handbook of cosmetic skin care**. 2nd ed. London: Informa Healthcare, 2009. ISBN 9780415467186 (pbk.) : No price

0415467187 (pbk.) : No price.

SHAKIBAEI, M.; HARIKUMAR, K. B.; AGGARWAL, B. B. Resveratrol addiction: to die or not to die. **Mol Nutr Food Res**, v. 53, n. 1, p. 115-28, Jan 2009. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19072742> >.

SHAO, J. et al. Enhanced growth inhibition effect of resveratrol incorporated into biodegradable nanoparticles against glioma cells is mediated by the induction of intracellular reactive oxygen species levels. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 72, n. 1, p. 40-7, Aug 2009. ISSN 1873-4367. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19395246> >.

SHI, J. et al. Self-assembled targeted nanoparticles: evolution of technologies and bench to bedside translation. **Acc Chem Res**, v. 44, n. 10, p. 1123-34, Oct 2011. ISSN 1520-4898. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21692448> >.

SILVA MARTINS, Á. C. et al. Antioxidant effects of nanoencapsulated lipoic acid in tissues and on the immune condition in haemolymph of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture Nutrition**, v. 0, n. 0, 2018. ISSN 1353-5773. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/anu.12663> >. Acesso em: 2018/03/19.

SINGH, I. S.; HASDAY, J. D. Fever, hyperthermia and the heat shock response. **Int J Hyperthermia**, v. 29, n. 5, p. 423-35, Aug 2013. ISSN 1464-5157. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23863046> >.

SIVEEN, K. S. et al. Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: role of synthetic and natural inhibitors. **Biochim Biophys Acta**, v. 1845, n. 2, p. 136-54, Apr 2014. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388873> >.

SMOLIGA, J. M.; BLANCHARD, O. Enhancing the delivery of resveratrol in humans: if low bioavailability is the problem, what is the solution? **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 17154-72, Oct 2014. ISSN 1420-3049. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25347459> >.

SONI, G.; YADAV, K. S. Applications of nanoparticles in treatment and diagnosis of leukemia. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 47, p. 156-64, Feb 2015. ISSN 1873-0191. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25492184> >.

SOUTO, E. B. et al. Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 58, n. 1, p. 83-90, Jul 2004. ISSN 0939-6411. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15207541> >.

SOUZA, M. A. J.; VARGAS, T. J. S. **Anatomia, fisiologia e histologia da pele**. Dermatologia estética. São Paulo: Atheneu. 2004. 3-8.

SREEDHAR, A. S.; CSERMELY, P. Heat shock proteins in the regulation of apoptosis: new strategies in tumor therapy: a comprehensive review. **Pharmacol Ther**, v. 101, n. 3, p. 227-57, Mar 2004. ISSN 0163-7258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15031001> >.

STEINBERG, D. et al. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. **N Engl J Med**, v. 320, n. 14, p. 915-24, Apr 1989. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2648148> >.

SUI, T. et al. Resveratrol inhibits the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin signaling pathway in the human chronic myeloid leukemia K562 cell line. **Oncol Lett**, v. 7, n. 6, p. 2093-2098, Jun 2014. ISSN 1792-1074. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24932295> >.

SUN, D. F. et al. Sphingosine 1-phosphate antagonizes the effect of all-trans retinoic acid (ATRA) in a human colon cancer cell line by modulation of RAR β expression. **Cancer Lett**, v. 319, n. 2, p. 182-189, Jun 2012. ISSN 1872-7980. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22261335> >.

SURH, Y. J. et al. Resveratrol, an antioxidant present in red wine, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. **Cancer Lett**, v. 140, n. 1-2, p. 1-10, Jun 1999. ISSN 0304-3835. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10403535> >.

TAVANO, L. et al. Co-encapsulation of antioxidants into niosomal carriers: gastrointestinal release studies for nutraceutical applications. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 114, p. 82-8, Feb 2014. ISSN 1873-4367. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24176886> >.

TIAN, H.; YU, Z. Resveratrol induces apoptosis of leukemia cell line K562 by modulation of sphingosine kinase-1 pathway. **Int J Clin Exp Pathol**, v. 8, n. 3, p. 2755-62, 2015. ISSN 1936-2625. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26045781> >.

TINHOFER, I. et al. Resveratrol, a tumor-suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2. **FASEB J**, v. 15, n. 9, p. 1613-5, Jul 2001. ISSN 0892-6638. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11427503> >.

TOMÉ-CARNEIRO, J. et al. Resveratrol and clinical trials: the crossroad from in vitro studies to human evidence. **Curr Pharm Des**, v. 19, n. 34, p. 6064-93, 2013. ISSN 1873-4286. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23448440> >.

TRAN, S. et al. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. **Clin Transl Med**, v. 6, n. 1, p. 44, Dec 2017. ISSN 2001-1326. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29230567> >.

TRELA, B. C.; WATERHOUSE, A. L. Resveratrol: Isomeric Molar Absorptivities and Stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1253-1257, 1996/01/01 1996. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jf9504576> >.

VELASCO, M. V. R. et al. Associação da Rutina com p-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: Avaliação In Vitro da Eficácia Fotoprotetora por Espectrofotometria de Refletância. 27: 23-27 p. 2008.

WAECHTER, F. et al. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Betulinic Acid Derivatives as New Antitumor Agents for Leukemia. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 17, n. 13, p. 1777-1785, 2017. ISSN 1875-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28403779> >.

WANG, H. et al. Plants vs. cancer: a review on natural phytochemicals in preventing and treating cancers and their druggability. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 12, n. 10, p. 1281-305, Dec 2012. ISSN 1871-5206.

WANG, J. et al. Physicochemical characterization, identification and improved photo-stability of α -lipoic acid-loaded nanostructured lipid carrier. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 40, n. 2, p. 201-10, Feb 2014. ISSN 1520-5762. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23336811> >.

WANG, L. et al. Angelica sinensis polysaccharide induces erythroid differentiation of human chronic myelogenous leukemia k562 cells. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 16, n. 9, p. 3715-21, 2015. ISSN 2476-762X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25987027> >.

WANG, S. et al. Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of diet-derived phytochemicals. **J Nutr Biochem**, v. 25, n. 4, p. 363-76, Apr 2014. ISSN 1873-4847. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24406273> >.

WANG, X. J.; LI, Y. H. Inhibition of human chronic myelogenous leukemia K562 cell growth following combination treatment with resveratrol and imatinib mesylate. **Genet Mol Res**, v. 14, n. 2, p. 6413-8, Jun 2015. ISSN 1676-5680. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26125846> >.

WEIJL, N. I. et al. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. **Ann Oncol**, v. 9, n. 12, p. 1331-7, Dec 1998. ISSN 0923-7534. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9932164> >.

WEINBERG, R. A. **The Biology of Cancer**. 2^a. 2014.

WHITE, E. The role for autophagy in cancer. **J Clin Invest**, v. 125, n. 1, p. 42-6, Jan 2015. ISSN 1558-8238. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25654549> >.

WHITEHEAD, K. A.; LANGER, R.; ANDERSON, D. G. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. **Nat Rev Drug Discov**, v. 8, n. 2, p. 129-38, Feb 2009. ISSN 1474-1784. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19180106> >.

WHYTE, L. et al. Molecular mechanisms of resveratrol action in lung cancer cells using dual protein and microarray analyses. **Cancer Res**, v. 67, n. 24, p. 12007-17, Dec 2007. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18089832> >.

- WU, X. P. et al. Resveratrol induces apoptosis of human chronic myelogenous leukemia cells in vitro through p38 and JNK-regulated H2AX phosphorylation. **Acta Pharmacol Sin**, v. 36, n. 3, p. 353-61, Mar 2015. ISSN 1745-7254. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25619392> >.
- XIA, N. et al. In vitro evaluation of α -lipoic acid-loaded lipid nanocapsules for topical delivery. **J Microencapsul**, v. 34, n. 6, p. 571-581, Sep 2017. ISSN 1464-5246. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28830289> >.
- YAN, H. W. et al. Resveratrol induces human K562 cell apoptosis, erythroid differentiation, and autophagy. **Tumour Biol**, v. 35, n. 6, p. 5381-8, Jun 2014. ISSN 1423-0380. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24526417> >.
- YANG, Q.; GUAN, K. L. Expanding mTOR signaling. **Cell Res**, v. 17, n. 8, p. 666-81, Aug 2007. ISSN 1748-7838. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17680028> >.
- YAO, Q. et al. [Study on the preparation of resveratrol chitosan nanoparticles with free amino groups on the surface]. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 31, n. 3, p. 205-8, Feb 2006. ISSN 1001-5302. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16572999> >.
- YIN, S. Y. et al. Therapeutic applications of herbal medicines for cancer patients. **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2013, p. 302426, 2013. ISSN 1741-427X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23956768> >.
- YU, H.; PARDOLL, D.; JOVE, R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. **Nat Rev Cancer**, v. 9, n. 11, p. 798-809, Nov 2009. ISSN 1474-1768. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19851315> >.
- ZAMIN, L. L. et al. Protective effect of resveratrol against oxygen-glucose deprivation in organotypic hippocampal slice cultures: Involvement of PI3-K pathway. **Neurobiol Dis**, v. 24, n. 1, p. 170-82, Oct 2006. ISSN 0969-9961. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16860989> >.
- ZASTROW, L. et al. From UV Protection to Protection in the Whole Spectral Range of the Solar Radiation: New Aspects of Sunscreen Development. **Adv Exp Med Biol**, v. 996, p. 311-318, 2017. ISSN 0065-2598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29124711> >.
- ZHAO, G.; HU, C.; XUE, Y. In vitro evaluation of chitosan-coated liposome containing both coenzyme Q10 and alpha-lipoic acid: Cytotoxicity, antioxidant activity, and antimicrobial activity. **J Cosmet Dermatol**, Jul 2017. ISSN 1473-2165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28722258> >.
- ZHOU, M. et al. Transcriptomic and metabolomic profiling reveal synergistic effects of quercetin and resveratrol supplementation in high fat diet fed mice. **J Proteome Res**, v. 11, n. 10, p. 4961-71, Oct 2012. ISSN 1535-3907. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22916952> >.
- ZHOU, T. et al. Structural mechanism of the Pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. **Chem Biol Drug Des**, v. 77, n. 1, p. 1-11, Jan 2011. ISSN 1747-0285. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21118377> >.
- ZHU, X. et al. Long-circulating siRNA nanoparticles for validating Prohibitin1-targeted non-small cell lung cancer treatment. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 112, n. 25, p. 7779-84, Jun 2015. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26056316> >.

Tratamento com o ácido lipóico na linhagem celular K562

A linhagem celular K562 foi tratada com o LA livre, porém o LA não demonstrou ter um efeito antiproliferativo. Desta forma como o RSV apresentou um bom resultado antiproliferativo, foi seguida a linha de trabalho apenas com o RSV no tratamento das células K562.

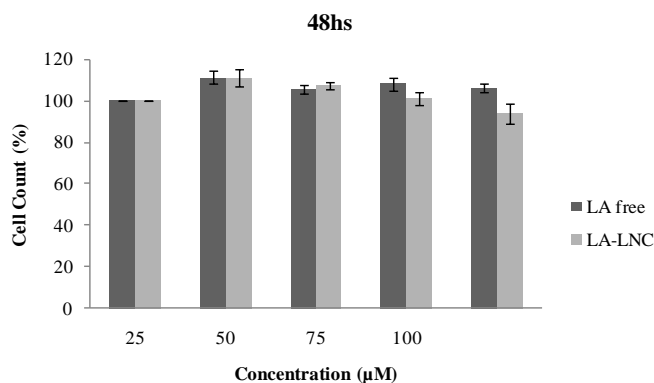


Figura 1. Viabilidade celular através de contagem celular com auxílio do citômetro de fluxo.

Atividade antioxidante da associação do ácido lipóico e o resveratrol

A co-encapsulação do LA e do RSV apresentou um aumento significativo na atividade antioxidante comparado com a solução dos fármacos associados. Dessa forma, a continuidade do trabalho foi realizada com a associação nos testes direcionados para o emprego em uma formulação de uso tópico.

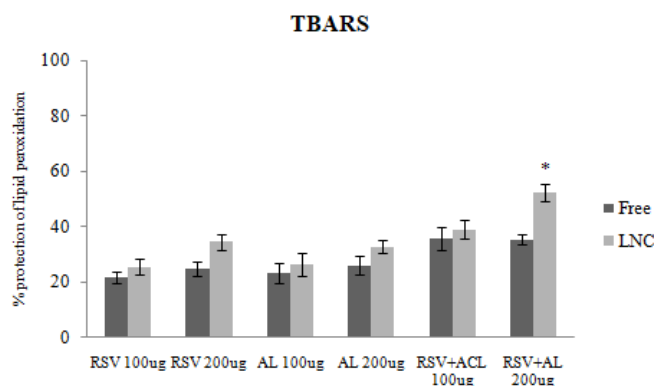


Figura 2: Determinação do efeito da atividade antioxidante AA do LA, RSV e sua associação. As medições foram realizadas determinando a concentração de malondialdeído na peroxidação lipídica *in vitro*. Os resultados são expressos como a porcentagem de atividade antioxidante em relação a uma amostra oxidada (controle positivo). AA das amostras nanoencapsuladas foi descontado a atividade da solução de nanocápsulas sem droga, elas foram verificadas em diferentes concentrações em nanocápsulas de LA e RSV. Os resultados são apresentados como média \pm DP dos triplicados. ANOVA seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).