



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA KEIZO ASAMI

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE

TÂMARA THAIANE ALMEIDA SIQUEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
ZEÍNA CONTENDO PIOGLITAZONA**

Recife

2022

TÂMARA THAIANE ALMEIDA SIQUEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
ZEÍNA CONTENDO PIOGLITAZONA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Aplicada à Saúde.

Área de Concentração: Biologia Aplicada à Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nereide Stela Santos Magalhães

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Sarah Brandão Palácio

Recife

2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Siqueira, Tâmara Thaianne Almeida

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de zeína contendo pioglitazona / Tâmara Thaianne Almeida Siqueira. – 2022.

68 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Nereide Stela Santos Magalhães.

Coorientadora: Profa. Dra. Sarah Brandão Palácio.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Alzheimer, Doença de. 2. Farmacologia. 3. Nanotecnologia. I. Magalhães, Nereide Stela Santos (orientadora) II. Palácio, Sarah Brandão (coorientadora). III. Título.

616.831

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-188

TÂMARA THAIANE ALMEIDA SIQUEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
ZEÍNA CONTENDO PIOGLITAZONA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Aplicada à Saúde.

Área de Concentração: Biologia Aplicada à Saúde.

Aprovada em: 12/08/2022

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Nereide Stela Santos Magalhães (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Mariane Cajubá de Britto Lira Nogueira (Examinador Interno)
CAV Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Noemia Pereira da Silva Santos (Examinador Externo)
CAV Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradecer, grata à todos que participaram desse ciclo ao meu lado. Uns tiveram passagens breves, outros foram personagens principais.

“Nada vai me separar, mesmo se eu me abalar, o teu amor não falha. Se o vento é forte e profundo o mar, tua presença vem me amparar. Teu amor não falha”. Hoje comemoro a etapa que tanto desejei desde a época da graduação, Deus é primordial em tudo. Ele jamais me desamparou. Ele me deu forças para finalizar e mesmo quando eu estava em meio a crises de ansiedade. Ele me deu forças pra no outro dia sempre ter ânimo para ir ao laboratório, pois lá ele sabia que eu me sentiria bem. E quando veio a pandemia eu estava desesperada com medo. Ele me deu forças para sair de casa e ir para o laboratório. Deus me quer sempre bem e sorrindo.

Agradecer, a minha família pelo cuidado e amor incondicional. Pois, desde que fui morar há quilômetros de distância nunca deixaram de me apoiar principalmente nos meus estudos. Grata ao meu pai (Rinaldo), minha mãe (Doralice), meu irmão (Robson), minha irmã (Débora), minha prima irmã (Jaqueline), minha cunhada (Tatiana) e a Willas e Ranúbia. Eles foram essenciais na minha trajetória. Ao meu sobrinho Pablo que me trouxe muitos sorrisos em meio aos aperreios. Ao meu noivo (Cláudio) que sempre me fortaleceu. Aos meus amigos irmãos: Isabela, Nayara, Dayane, Jackeline, Rebeca, Priscila, Cidinha, Cláudio e João Victor por sempre torcerem por mim, e estarem de braços abertos quando eu queria me sentir segura. Amo vocês. Com certeza vocês foram meu apoio.

Morar em Recife me trouxe muitos gatilhos. Porém, conheci pessoas maravilhosas. Agradeço à minha orientadora Dra. Nereide Stela Santos Magalhães, por me dar a oportunidade de conhecer a nanotecnologia e por me proporcionar aulas grandiosas cheias de detalhes, realmente uma riqueza de conhecimento. Sarah Palácio, minha coorientadora que me deu todo o suporte para iniciar essa jornada que é a nanotecnologia farmacêutica. Obrigada por confiar em meu potencial uma enfermeira com apoio de grandes farmacêuticas.

Também agradeço aos meus colegas de laboratório: André Luis, Sandrely e a Rafaela Ferraz pela compreensão nos momentos que senti dificuldade no

laboratório, por me ajudarem a melhorar meu entendimento sobre a nanotecnologia. A Charles por sua solicitude. Ao Iago, pelos ensinamentos e suporte, na reta final, para eu conseguir terminar. Obrigada pela força. Aos IC's, Samily por sempre demonstrar interesse em participar de cada etapa. A Azael por estar presente e me acompanhar até tarde no laboratório para que pudesse finalizar meus experimentos diários.

A professora Dra. Mariane Lira Nogueira, que contribuiu com suas considerações e conhecimento, muito obrigada pelo tempo destinado para correção deste trabalho.

Aos técnicos do LIKA e funcionários Gabriel, Jana, Edson e Fábio, por toda ajuda e contribuição durante essa jornada.

Sou imensamente grata a todos que direta ou indiretamente contribuíram e presenciaram essa caminhada para gerar essa dissertação, que hoje garante meu título de Mestre.

“ Perdi muito tempo até aprender que não se guarda palavras: ou você as fala ou as escreve ou elas te sufocam”.

Clarice Lispector

RESUMO

A Demência de Alzheimer (DA) é considerada uma doença neurodegenerativa crônica, cuja etiologia ainda não é clara, mas estudiosos relatam a fisiopatologia associada a resistência à insulina. Atualmente os tratamentos farmacológicos utilizados para a DA não são considerados modificadores da doença, apenas desaceleram a sua progressão. Neste contexto, o fármaco pioglitazona (PGZ), com atividade hipoglicemiante para o tratamento da Diabetes Mellitus tipo II, tem demonstrado, em estudos recentes, potencial atividade modificadora contra a demência de Alzheimer, entretanto, apresenta cardiotoxicidade. Com o intuito de utilizar a nanotecnologia farmacêutica para melhorar a eficiência e reduzir a toxicidade da PGZ, o presente estudo teve como objetivo desenvolver nanopartículas revestidas com Zeína contendo pioglitazona, com atividade descrita na literatura contra a demência de Alzheimer. Inicialmente, foi realizado o planejamento fatorial Box-Behnken a fim de otimizar a formulação com a variação de dois parâmetros: a proporção zeína/lisina e o volume da fase aquosa. As NPs obtidas foram caracterizadas em relação ao diâmetro, índice de polidispersão, potencial zeta e taxa de encapsulação da PGZ. A formulação contendo PGZ (PGZ-ZNP) selecionada pela análise fatorial, apresentou as seguintes características físico-químicas: diâmetro médio de partículas de $200,6 \pm 1,4$ nm com índice de polidispersão (PDI) de 0,102; potencial zeta de $-45,5 \pm 3,2$ mV e taxa de encapsulação do fármaco de $103,84 \pm 28$ %. Posteriormente, as NPs foram analisadas através das técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). As referidas análises comprovam a formação das nanopartículas e sugerem a encapsulação da PGZ. PGZ-ZNP manteve suas características iniciais após 12 meses de armazenamento a 4°C na forma liofilizada.

Palavras-Chaves: Doença de Alzheimer; Nanopartículas; Pioglitazona; Zeína.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is considered a chronic neurodegenerative disease, it is still unclear, but whose analysis is related to the pathophysiology associated with insulin resistance. Currently, the pharmacological treatments used for AD are not considered disease-modified, they only slow down its progression. In this, the drug pioglitazone (PGZ), with hypoglycemic activity for the treatment of Type II Diabetes Mellitus, has demonstrated, in recent studies, a potential modifying activity against Alzheimer's dementia, however, it presents cardiotoxicity in the context. In order to use a pharmaceutical nanotechnology to improve the efficiency and reduce the toxicity of PGZ, the present study aimed to develop Zein-corrected nanoparticles containing pioglitazone, with activity described in the literature against Alzheimer's dementia. In the aqueous phase, a Box-Bebe factorial design was carried out for the end of the optimization, considering a configuration of two parameters: the zein/lysine ratio and the volume of the phase initially. The NPs at dispersion index were encapsulated in relation to zeta potential and delivery rate. A) of particles containing PGZ (PG-ZNP) selected by factor analysis, presented as the following physical-chemical characteristics of diameter: average particle size of 200.6 ± 1.4 nm with polydispersion index (PDI 0.102; zeta potential of -45.5 ± 3.2 mV and drug encapsulation rate of $103.84 \pm 28\%$. Subsequently, as NPs were made using Scanning Electronic Micro Transform (SEM), Fourier Infrared (FT-IR) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) The aforementioned evidence of proof of nanoparticles and the formation of said nanoparticles of PGZ PGZ-ZNP maintained its initial characteristics after 12 months of storage at 4°C in lyophilized form.

Keywords: Alzheimer's; Nanoparticles; Pioglitazone; Zein

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química da Pioglitazona	23
Figura 2- Representação estrutural da nanocápsula, nanosfera e núcleo-coroa	29
Figura 3- Principais nanosistemas para encapsulação de fármacos	30
Figura 4- Representação estrutural de nanosfera de zeína com fármaco na matriz polimérica	34
Figura 5- (A) Zeína, lisina e fármaco; (B) nanopartícula PGZ-ZNP	37
Figura 6- Curva analítica da PGZ	43
Figura 7-Cromatograma da PGZ nas concentrações de 10µg/mL (A), 30µg/mL (B), 50 µg/mL (C), 70 µg/mL (D), 90 µg/mL (E), 110 µg/mL (F)	44
Figura 8 - Cromatograma das nanopartículas ZNP em concentração 70 µg/mL (D).44	
Figura 9 – Cromatograma das nanopartículas PGZ-ZNP em concentração de 70 µg/mL(D).....	45
Figura 10- Espectro de FT-IR da Pioglitazona, nanopartícula de Zeína (ZNP) e nanopartícula de Zeína contendo Pioglitazona (PGZ-ZNP).....	46
Figura 11- Calorimetria Diferencial de Varredura da ZNP e PGZ-ZNP.....	47
Figura 12- Calorimetria Diferencial de Varredura da pioglitazona	48
Figura 13- Microfotografia das nanopartículas ZNP (A) e PGZ-ZNP (B) observadas por microscópio eletrônico de varredura.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Planejamento Fatorial Box-Behnken	36
Tabela 2-Formulação, volume, diâmetro e potencial zeta das nanopartículas de zeína-lisina (ZNP).....	40
Tabela 3- Diâmetro da partícula, pdi, potencial zeta e taxa de encapsulação da PGZ-ZNP	42
Tabela 4- Acompanhamento do pH em um período de 12 meses armazenadas a temperatura de refrigeração de 4-8°C (em dispersão) e dessecador (liofilizada).....	50
Tabela 5-Diâmetro da partícula, potencial zeta e índice de polidispersão das nanopartículas PGZ-ZNP em diferentes tempos	50

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

AChE- Acetilcolinesterase

Ag - Prata

APP- Proteína Precussora Amilóide

Au- Ouro

A β - amilóide- β

BHE- Barreira Hematoencefálica

DA- Demência de Alzheimer

DM TIPO II - Diabetes Mellitus tipo II

DSC- Calorimetria Diferencial de Varredura

FDA- Food and Drugs Administration

FT-IR - Análises de Infravermelho

GRAS- Geralmente Rconhecido como Seguro

MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura

MWs- Pesos Moleculares

NPs - Nanopartículas

Pd - Paládio

PGZ- Pioglitazona

PPAR- γ - Receptor de Proliferação de Peroxissoma tipo gama

Pt- Platina

ROS- Espécies Reativas de Oxigênio

SNC- Sistema Nervoso Central

SUS- Sistema Único de Saúde

TZD- Tiazolidinediona

PDI- índice de polidispersão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 DOENÇA DE ALZHEIMER.....	17
2.1.1 Tratamento do Alzheimer.....	19
2.2 PIOGLITAZONA	22
2.3 DIRECIONAMENTO DE MOLÉCULAS ATIVAS PARA O SISTEMA NERVOSO CENTRAL	24
2.4 NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA.....	26
2.4.1 Nanopartículas.....	27
2.5 ZEÍNA.....	31
3 OBJETIVOS.....	35
3.1 OBJETIVO GERAL	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4 METODOLOGIA.....	36
4.1 PLANEJAMENTO FATORIAL BOX-BEHNKEN	36
4.2 PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULA CONTENDO PIOGLITAZONA.....	36
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	37
4.3.1 Tamanho, Índice de Polidispersão e carga de superfície.....	37
4.3.2 Taxa de encapsulação da PGZ	38
4.3.3 Morfologia da nanopartícula.....	39
4.3.4 Análise espectroscópica.....	39
4.3.5 Análise Térmica	39
4.4 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS.....	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1 PLANEJAMENTO FATORIAL BOX-BEHNKEN.....	40
5.2 NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA-LISINA CONTENDO PIOGLITAZONA (PGZ- ZNP).....	41

5.3 QUANTIFICAÇÃO DA PIOGLITAZONA NA NANOPARTÍCULA.....	42
5.4 ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA	45
5.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA	46
5.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA DA ZNP E PGZ-ZNP.....	48
5.7 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS	49
5 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

A incidência de doenças crônicas neurodegenerativas tende a aumentar com o envelhecimento populacional e estas representam hoje um dos maiores fardos econômicos para os serviços de saúde e para sociedade em geral, pois requerem um manejo clínico de longo prazo e de alto custo. As doenças neurodegenerativas levam à um declínio progressivo da função cognitiva do paciente e à perda de estrutura neuronal, incapacitando os pacientes de exercerem suas atividades sociais e produtivas (MATHEW et al., 2012; PERNECZKY et al., 2019). A demência de Alzheimer (DA), dentre as doenças crônicas neurodegenerativas, é considerada a principal causa de demência e apresenta alta incidência após os 65 anos podendo dobrar a cada cinco anos, estima-se que a cada ano 1125/100.000 indivíduos são acometidos pela doença. No entanto, os tratamentos hoje disponíveis comercialmente para a DA, dentre eles os fármacos donepezil, galantamina, memantina e rivastigmina, todos aprovados pelo *Food and Drugs Administration* (FDA), não são considerados fármacos modificadores da doença, apenas lentificam sua progressão e seus sintomas em curto prazo (FOLCH et al., 2018; THOE, et al., 2021).

Dentre as vertentes de pesquisa para o tratamento do Alzheimer, estudos sugerem que essa patologia pode estar associada com a resistência e anormalidades da insulina, uma vez que tal hormônio pode interferir na fisiopatologia e nos sintomas da DA. Assim sendo, a diabetes do tipo 2 pode aumentar a chance de desenvolvimento desse distúrbio cognitivo (POMYTKIN et al., 2018). O fármaco pioglitazona é um agonista do receptor ativado por proliferadores de peroxissomas (PPAR) e é utilizado clinicamente para controlar a glicemia em pacientes que possuem a diabetes tipo 2, além de atuar na regulação da expressão de enzimas responsáveis pelo metabolismo lipídico (SATO et al., 2011). O receptor PPAR quando está ativado auxilia na supressão da resposta inflamatória e influi diretamente no aumento da sensibilização dos órgãos da periferia a insulina. Essa ação da pioglitazona sob os receptores a torna potencial terapia para a DA (TUMMINIA et al., 2018). No entanto, o uso da pioglitazona apresenta efeitos colaterais que podem aumentar o risco de insuficiência cardíaca congestiva e também está associada ao desenvolvimento de

tumores na bexiga e, portanto, foi retirada dos mercados em muitos países (CANCHI et al., 2017).

Atualmente como alternativa para a melhoria da biodisponibilidade, diminuição dos efeitos colaterais e melhora da eficácia deste composto, a utilização da nanotecnologia tem se mostrado viável e vantajosa, com a encapsulação da pioglitazona em nanocarreadores capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e aumentar a biodisponibilidade de fármacos com ação neurológica, promovendo sua entrega em locais de ação específicos (WEN et al., 2017). Os agentes terapêuticos com atividade no sistema nervoso central (SNC) apresentam limitações que impossibilitam a sua atuação de maneira eficaz, pois precisam atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) área com baixa permeabilidade. A BHE permite a travessia apenas de algumas moléculas, assim sistemas de entregas baseado em nanotecnologia apresentam uma alternativa promissora o transporte eficiente de drogas para a matriz cerebral (HSU, et al., 2021).

Neste sentido, a nanotecnologia farmacêutica por meio dos nanocarreadores podem prolongar a ação do fármaco e melhorar a sua biocompatibilidade a partir da utilização dos sistemas de liberação de fármacos como nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, lipossomas e nanoemulsões, que oferecem proteção a degradação enzimática, modulação farmacocinética e diminuição dos efeitos colaterais (HAJLEH et al., 2021; KHURANA et al., 2021).

Os nanocarreadores podem ser produzidos a partir dos polímeros biodegradáveis, polissacarídeos, lipídeos e proteínas. Atualmente a zeína vem sendo utilizada na produção de nanopartículas, pois apresenta grande potencial de encapsulação (LÚCIO et al., 2017). A zeína é uma proteína vegetal presente no milho com características moleculares anfífilas. A nanopartícula de zeína apresenta partícula esférica, não tóxica e biodegradável, sendo amplamente utilizada na indústria. Os sistemas a base de proteína permitem a modulação de sua carga de superfície e maior interação com as membranas (PAULUK et al., 2019). A zeína é facilmente transformada em nanopartículas coloidais esféricas e devido a sua alta capacidade de revestimento tem sido utilizada como sistemas de liberação de enzimas, fármacos e óleos essenciais (PASCOLI; DE LIMA; FRACETO, 2018). Sendo também promissora para o fornecimento de diversos bioativos demonstrando um futuro com ampla aplicações na indústria (YUAN et al., 2022). As nanopartículas de

zeína apresentam diversas vantagens além de alta probabilidade de produção industrial em larga escala (LI et al., 2019).

A nanotecnologia farmacêutica ganhou notoriedade na ciência, pois os nanocarreadores são sistemas que podem ser desenvolvidos para direcionamento de fármacos a sítios específicos. A nanoencapsulação pode promover diminuição da toxicidade e aumentar a biodisponibilidade do fármaco (SHINDE et. al., 2020). Nesse sentido, são sistemas que podem contribuir para a eficácia terapêutica. Portanto, no presente estudo foram formuladas nanopartículas de zeína contendo pioglitazona encapsulada, foram realizadas as caracterizações físico-químicas e análise da estabilidade das nanopartículas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇA DE ALZHEIMER

Demência é uma síndrome clínica caracterizada por declínio progressivo em dois ou mais domínios cognitivos, incluindo memória, linguagem, função executiva, visual e espacial, personalidade e comportamento, que causa perda de habilidades para realizar atividades instrumentais e/ou básicas da vida diária (CROUS-BOU et al., 2017). Acredita-se que as demências acometem cerca de 2 milhões de pessoas no Brasil, sendo que cerca de 40-60% delas são DA (SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA, 2019).

A Alzheimer é uma doença neurodegenerativa incurável prevalente na velhice, ela foi descrita pela primeira vez em 1907 por Alois Alzheimer, porém a ciência ainda não conseguiu desenvolver um tratamento modificador da doença (ZHOU et al., 2021). Segundo a Alzheimer's Association Report (2015), 13% das pessoas com mais de 65 anos sofrem com a Doença de Alzheimer (DA) nos países desenvolvidos, onde é a quinta causa de morte em pacientes nessa idade.

Atualmente a doença de Alzheimer é considerada a causa mais comum de demência, sendo responsável por 60 a 70% dos casos de demência em todo o mundo e afeta aproximadamente cerca de 10% das pessoas acima de 65 anos e 32% pessoas acima de 85 anos (LENG; EDISON, 2021). Estima-se haver mais de 50 milhões de pessoas com demência no mundo, este número praticamente irá dobrar a cada 20 anos, chegando a 74,7 milhões em 2030 e a 152 milhões em 2050, estima-se que a cada 3,2 segundos, um novo caso de demência é detectado no mundo e a previsão é de que em 2050, haverá um novo caso a cada 1 segundo (ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2022).

Knopman e colaboradores (2021) relatam que a educação socioeconômica e mudanças no estilo de vida contribuem para redução da demência, fato este observado entre os anos 2000 e 2010 com incidência de 2,2 em um grupo de 100 pessoas em comparação aos anos de 1970-1980 com incidência de 3,6 em um grupo de 100 pessoas. A educação e uma maior escolaridade podem contribuir na redução da demência.

No Brasil, existe uma escassez sobre a precisão do número de pessoas com DA devido ao número de casos em que há dificuldades no diagnóstico, em um estudo de âmbito nacional os casos de demência no país variaram de 5,1 a 17,5% em idosos

com 60 anos ou mais (BOFF; SEKYIA; BOTTINO, 2011). Em 2016 o Brasil ocupou a segunda colocação no mundo em relação a prevalência de demência por idade, sendo a DA responsável por 70% dos casos. Os casos de óbitos por demência entre 2007 e 2017 apresentou aumento de 55,5% os números são maiores do que os óbitos ocasionados por câncer de mama, próstata e fígado (FETER, et al., 2021).

A etiologia do Alzheimer ainda não está totalmente esclarecida, porém é provável que fatores genéticos e ambientais estejam envolvidos (BIANCHI; HERRERA; LAURA, 2021). Zhang e colaboradores (2022) relatam que os fatores de riscos como doenças cerebrovasculares, obesidade e diabetes são fatores contribuintes para o desenvolvimento da perda cognitiva. Assim, a diabetes mellitus tipo II e a resistência a insulina são importantes fatores associados a DA.

Atualmente estudos demonstram a associação da RI na DA com evidências de sua ligação direta com os mecanismos que envolvem o aparecimento das placas amilóide- β . Assim, a diabetes mellitus tipo 2 contribui para a deficiência cognitiva por meio das vias cerebrovasculares e neurodegenerativas aceleradas via hiperglicemia e hiperinsulinemia, bem como contribui para aumento do estresse oxidativo e inflamação (SAMARAS et al., 2020).

Além disso, o desequilíbrio entre diversos neurotransmissores e as deficiências cognitivas são resultados da destruição neuronal de maneira progressiva. A fisiopatologia da DA é amplamente discutida pela comunidade científica, que descrevem duas hipóteses a respeito dessa neuropatologia, a hipótese amilóide e a proteína Tau (YIANNPOULOU et al., 2019). Assim, a hipótese amilóide é caracterizada pelo acúmulo de placas amilóide- β ($A\beta$) e a proteína tau resulta nos emaranhados neurofibrilares de tau fosforilada, ambos na região do cérebro ocasionando a neurodegeneração e comprometimento cognitivo (MOSCOSO, et al., 2021).

Kulenkampff e colaboradores (2021) relatam que a nível molecular é possível observar que a doença inicia no momento que ocorre o desdobramento incorreto de proteínas, que resultam na formação de agregados desordenados. No caso da DA ocorre a deposição de peptídeos amilóide- β e os emaranhados de proteína tau.

A hipótese amilóide é apoiada pelas mutações que ocorrem nos genes codificadores da Proteína Precursora Amilóide (APP) e das presenilinas. A APP é clivada pelas enzimas β - e γ -secretase, sendo as presenilinas parte do processo de

clivagem realizado pela β -secretase, ou seja, essencial na formação das placas amilóide- β . A β -secretase cliva a APP e posteriormente é liberado um fragmento C-terminal C 99, o fragmento será clivado pela γ -secretase que dará origem a $A\beta$ no cérebro (COMPAGNONI et al., 2020; WANG et. Al., 2019).

2.1.1 Tratamento do Alzheimer

Os medicamentos atualmente aprovados pela FDA para o tratamento de deficiências cognitivas na DA são baseados em neurotransmissores ou modulação enzimática, porém ainda não identificaram um tratamento modificador da doença (LONG; HOLTZMAN, 2019). Os inibidores da acetilcolinesterase estão associados a efeitos adversos gastrointestinais, como náuseas e vômitos, que mais comumente levam à descontinuação do tratamento (AUDIRA, 2020).

Os primeiros medicamentos aprovados pelo FDA paratratamento do Alzheimer ocorreu na década de 90. A tacrina (tetra-hidroaminoacridina) foi o primeiro fármaco inibidor de acetilcolinesterase (AChE) para o tratamento da DA, porém teve pouca duração no mercado sendo retirado por apresentar hepatotoxicidade. Outros fármacos inibidores da acetilcolinesterase foram lançados como: Donezepil com dose diária entre 5-10 mg/dia, Galantamina com dose diária de 16-24 mg/dia, Rivastigmina com 6-12mg/dia e Memantina com 20mg/dia. (BREIJYEH; KARAMAN, 2020; ZHANG et. al., 2019).

No Brasil o Ministério da Saúde preconiza o uso desses medicamentos para o tratamento da DA. Sendo, fornecido gratuitamente pela estratégia de acesso a medicamentos no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Além desses fármacos oferecidos para tratamento oral, é também ofertado em todo o país a Rivastigmina adesivo transdérmico. A Rivastigmina provoca desconfortos gastrointestinais, diarreia, náusea e vômitos, assim o uso do adesivo busca diminuir esses efeitos colaterais, sendo este um desafio para a indústria farmacêutica (BRASIL, 2021).

A eficácia de um tratamento pode ser aumentada pela incorporação de sistemas de administração de medicamentos baseados em nanotecnologia, visando melhorar a biodisponibilidade, farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos, reduzindo seus efeitos colaterais (MCCLEMENTS; OZTURK, 2021; KORANI et al., 2019).

A falha terapêutica frequentemente no tratamento de DA ocorre devido à farmacocinética e farmacodinâmica desfavoráveis dos medicamentos (TIWARE et al., 2019). A falha da farmacoterapia é o resultado da química física inadequada dos medicamentos como a hidrofobicidade, absorção desfavorável por membranas biológicas, parâmetros farmacocinéticos desfavoráveis, instabilidade dos medicamentos e toxicidade aos tecidos (SIKMA et. al, 2020; TIWARE et. al, 2019; ARIAS, 2014). Para a eficácia terapêutica após administração de um fármaco são necessários dois fatores importantes a solubilidade e permeabilidade, tais fatores são essenciais para a redução da toxicidade. Neste sentido, o uso da nanotecnologia no desenvolvimento de sistemas de entrega adequado para fármacos instáveis é essencial para alcançar um sucesso terapêutico, uma vez que esses fármacos não conseguem chegar ao alvo com dosagem terapêutica ideal (SAKA; CHELLA, 2020; DENG et. al., 2020a).

Por um lado, um aspecto essencial no desenvolvimento da nanomedicina é o sistema de liberação controlada de drogas em locais de doenças (ZHANG, 2018; ARIAS, 2014; SINGH; SALNIKOVA, 2014; PEARCE; O'REILLY, 2019). As características físico-químicas dos fármacos, como hidrofiliabilidade ou lipofiliabilidade, alto peso molecular, baixa biodisponibilidade, extensa metabolização e efeitos adversos, podem resultar em seu insucesso como farmacoterapêutico (MEHTA et. al., 2018).

No Alzheimer as opções de tratamento são limitadas principalmente devido à incapacidade dos medicamentos de cruzar a barreira hematoencefálica (TALIYAN et al., 2022; DEL AMO et al., 2021; ALYAUDIN et al., 2014) ou à baixa solubilidade por via oral (HANDA et. al., 2021). Muitas estratégias foram desenvolvidas para superar a barreira hematoencefálica, como sistemas de liberação de drogas, lipossomas, nanopartículas poliméricas e sólidos, carreadores de lipídeos sólidos, cristais líquidos, microemulsões e hidrogéis (PATHAK; VAIDYA; PANDEY, 2019; GHEIDARI; BAYAT, 2022; ALYAUDIN et al., 2014; WECHSLER; VELA RAMÍREZ; PEPPAS, 2019).

Saeedi e colaboradores (2019) relatam que as nanopartículas poliméricas com revestimentos poliméricos podem facilitar a entrada do fármaco na barreira hematoencefálica, assim permitindo a sua entrega ao SNC resultando em melhorias no tratamento de doenças que afetam a região.

Rabbie e colaboradores (2021) relatam que o mecanismo de transporte das nanopartículas poliméricas por meio da barreira hematoencefálica pode ser explicado pela retenção aumentada das nanopartículas poliméricas nos capilares sanguíneos do cérebro em combinação com a adsorção das nanopartículas poliméricas às paredes dos capilares. Esses eventos levam a um gradiente de concentração mais alto, o que aumenta o transporte através da camada de células endoteliais e, portanto, aumenta a entrega ao cérebro.

A distribuição de medicamentos por meio da barreira hematoencefálica para o cérebro pode fornecer uma vantagem significativa sobre as estratégias atualmente utilizadas sem danificar a barreira hematoencefálica (WOHLFART; GELPERINA; KREUTER, 2012).

As nanopartículas são promissoras no tratamento de doenças que comprometem o SNC, sendo desafiador o mecanismo de transporte das nanopartículas na barreira hematoencefálica. O seu transporte pode ocorrer por meio da transcitose ou endocitose onde os mecanismos de transportes das células endoteliais possibilitam o transporte da nanopartícula através destas células. Outro mecanismo é por meio da inibição do sistema de efluxo com a utilização de um agente de revestimento como por exemplo o polissorbato 80 que modifica a nanopartícula, o tensoativo adsorve proteínas plasmáticas possibilitando o seu reconhecimento e ligação com receptores existentes nas células endoteliais. Nesse sentido, ainda é possível facilitar o transporte por meio do mecanismo de indução de efeitos tóxicos local na vasculatura cerebral, levando a uma permeabilização limitada das células edoteliais cerebrais (ESCALONA-RAYO, 2019; BARBU et al., 2009).

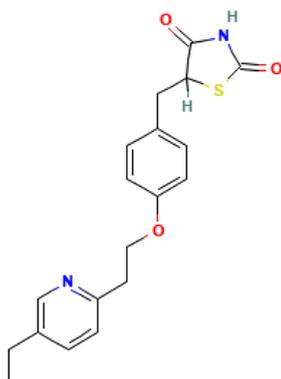
Os sistemas de liberação de medicamentos apresentam diversas propriedades benéficas, como biodegradabilidade, biocompatibilidade, não toxicidade, não imunogenicidade, alta estabilidade em fluidos corporais e capacidade de interagir com receptores específicos, além disso, as nanopartículas permitem a liberação controlada e sustentada do fármaco, permitindo manter doses ativas dos agentes terapêuticos por períodos prolongados, apesar disso, a liberação do fármaco por nanocarreadores reduz as doses necessárias para produzir os efeitos terapêuticos devido à melhora da atividade farmacológica do fármaco, diminuindo os efeitos colaterais (WAIS et al., 2016).

2.2 PIOGLITAZONA

O Cloridrato de Pioglitazona (PGZ) é um fármaco anti hiperglicêmico oral utilizado no tratamento da diabetes mellitus tipo II (DM TIPO II). Apresenta eficácia na melhora do controle glicêmico enquanto reduz os níveis de insulina circulante. Sendo o objetivo do fármaco diminuir a resistência à insulina por meio da melhora da sensibilidade dessa insulina no músculo e no tecido adiposo e inibir a gliconeogênese hepática (LI et al., 2017). O fármaco foi desenvolvido pela empresa farmacêutica Takeda e aprovada pelo FDA em 1999 para o tratamento da DM tipo II (ABYADEH et al., 2021).

Pertencente ao grupo da tiazolidinediona (TZD) a pioglitazona 5 - [[4- [2- (5-etilpiridin-2-il) etoxi] fenil] metil] -1,3-tiazolidina-2,4-diona (**Figura 1**) atua como um agonista do receptor de proliferação de peroxissoma tipo gama (PPAR- γ) (PUBCHEM, 2021; JAGAT J; KALYAN K; SUBIR, 2020). Estudos mostram que a PGZ regula diversos genes sensíveis à insulina por meio da ativação do PPAR- γ (JIN et al., 2018). A PGZ amplia a capacidade de resposta celular contribuindo para homeostase da glicose e eliminando a dependência de insulina. As drogas que ativam esse receptor atuam de forma benéfica em modelos pré-clínicos de doenças neurodegenerativas. O uso a longo prazo deste fármaco reduz a incidência de demência em pacientes com DM TIPO II (PUBCHEM, 2021).

A PGZ (**Figura 1**) é um fármaco de base fraca com um valor de pKa de 7,4 um valor de log P de 2,3. Administrado via oral com dose máxima de 45 mg por dia (SWAIN; SUBUDHI 2019). Considerado um fármaco pouco solúvel (1,8 ug/mL) em água, assim, enquadra-se na classe II do sistema de classificação biofarmacêutica, resultando na má absorção e redução da atividade farmacológica. Além disso, apresenta tempo de meia vida curta (3-6) conseqüentemente pode refletir no aumento da dose e nos efeitos colaterais (SHAVETA et al., 2020).

Figura 1- Estrutura química da Pioglitazona

Fonte: PUBCHEM, 2022

Atualmente a PGZ é utilizada para o controle glicêmico de adultos com diabetes tipo 2, porém estudos recentes sobre o fármaco revelam evidências de propriedades neuroprotetoras, ou seja, pode contribuir positivamente no tratamento da Doença de Alzheimer. No entanto, faz-se necessário estudos mais aprofundados para entender o mecanismo de ação da PGZ em doenças neurodegenerativas. O que se sabe é que o receptor proliferador de peroxissoma tipo gama é um novo alvo neuroprotetor principalmente na DA (BLACKBURN et al., 2022).

O fato da PGZ conseguir atravessar a barreira hematoencefálica favorece a fisiologia cerebral, visto que, o cérebro utiliza principalmente glicose como energia, mas que no distúrbio neurológico encontra-se diminuído (AFZAL et al., 2021).

Estudos mostram que os agonistas PPAR apresentam efeitos antiinflamatórios e antioxidantes em modelos de distúrbios do SNC como exemplo DA e Doença de Parkinson, ou seja, contribui para mitigar a liberação de citocinas pró-inflamatória e marcadores de estresse oxidativo (DENG, 2020b). O excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS), prejudicam o sistema biológico. Sendo, o estresse oxidativo e a inflamação inerentes a doenças crônicas, dentre elas DM e DA. O controle da produção e remoção de ROS é realizada pelo sistemas enzimáticos antioxidantes, o desequilíbrio entre esses sistemas ocasionam um grande problema em diferentes biomoléculas, podendo resultar em doenças crônicas e neurodegenerativas (AFZAL et al., 2021).

2.3 DIRECIONAMENTO DE MOLÉCULAS ATIVAS PARA O SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Na última década houve um aumento nas doenças neurodegenerativas, o Instituto Nacional de Distúrbios Neurológicos e Derrame reconhece mais de 600 tipos de distúrbios neurológicos, dentre eles a DA (CROWE et al., 2018). Apesar do enorme avanço nos sistemas de distribuição de drogas para o tratamento de distúrbios do sistema nervoso central das doenças neurodegenerativas, ainda há necessidade de novos medicamentos direcionados ao cérebro, o principal obstáculo para direcionar a droga ao cérebro é a presença de barreira hematoencefálica (KHAN et al., 2017).

A barreira hematoencefálica é uma delicada rede de vasos sanguíneos com células endoteliais compactadas que separam o cérebro do sistema circulatório, ele protege o cérebro da entrada de substâncias nocivas, como toxinas e bactérias, as substâncias hidrofílicas, moléculas carregadas, proteínas e peptídeos são incapazes de atravessar essa barreira, enquanto drogas lipofílicas, como antidepressivos, ansiolíticos e muitos hormônios podem facilmente atravessar as células endoteliais (BRAIN FACTS, 2020).

Pacientes que sofrem de distúrbios neurológicos precisam de dosagem crônica, causando efeitos colaterais em órgãos não direcionados, considera-se que a maioria dos medicamentos para tratar os distúrbios neurológicos perderam seu potencial pela limitação da barreira hematoencefálica, resultando em opções de tratamento limitadas para os pacientes que sofrem de doenças neurodegenerativas (ERDŐ et al., 2018). Portanto, o transporte não invasivo de drogas para o cérebro é altamente necessário para distúrbios neurológicos e tumores cerebrais que requerem terapia crônica.

Atualmente, vem ganhando notoriedade o desenvolvimento de tecnologias que permitam a administração intranasal para um transporte direcionado e não invasivo até a barreira hematoencefálica. O desenvolvimento de sistemas de entregas como nanopartículas são uma alternativa para o transporte de drogas diretamente para o SNC. Além disso, a nanotecnologia pode melhorar a biodisponibilidade e os efeitos colaterais da droga. Nesse sentido, mesmo as partículas menores que 200 nm sendo ideais para a administração sistêmica e com capacidade para escapar do sistema reticuloendotelial, a administração via nariz-cérebro apresenta vantagens sobre a intravenosa. Porém, esta via ainda apresenta-se em fase pré-clínica (HSU, et al., 2021).

A via olfatória é uma alternativa confiável para atingir os efeitos terapêuticos desejados em doses mais baixas para o tratamento de doenças crônicas, minimizando os efeitos colaterais, a distribuição transmucosa de drogas por meio da via olfatória ou trigeminal para o cérebro, passando a barreira hematoencefálica, é referida como o transporte direto de drogas para o cérebro, esta é a única rota pela qual o cérebro está em conexão com o ambiente externo (AGRAWL et al., 2020).

Esta conexão neural ganhou atenção para liberação controlada de drogas pelas formulações que variam de pequenas moléculas a grandes moléculas, como nucleotídeos, peptídeos e proteínas para o cérebro, prevenindo a degradação enzimática e aumentando os efeitos farmacológicos sem absorção sistêmica e toxicidade para o principais órgãos periféricos. A administração intranasal permite que o agente terapêutico passe pela barreira hematoencefálica e chegue até o SNC. Esta via de administração nariz-cérebro evita a circulação sistêmica assim reduzindo os riscos de efeitos colaterais sistêmicos além de depuração hepática e renal. Assim, resultando na entrega bem-sucedida dos medicamentos do nariz direto para o cérebro (HAUMANN et. al, 2020; VAN WOENSEL et al., 2013).

Atualmente, fármacos com atuação no SNC despertam interesse na comunidade científica. A busca por agentes neuroprotetores para tratamento de doenças neurodegenerativas contribuíram para a descoberta da classe de medicamento que atuam como agonistas de PPAR- γ as tiazolidinedionas (TZDs), Os PPARs atuam como neuroprotetores por meio da interação com células da microglia. No Alzheimer a ativação do PPAR aumenta a captação fagocítica das placas beta amilóides (EL-DIN et al., 2021).

Abyadeh e colaboradores (2021) relatam que a pioglitazona um fármaco da classe das TZDs ao se ligar ao PPAR- γ reduz a hiperglicemia, hiperinsulinemia e inflamação. Além disso, relatam que experimentos em camundongos induzidos ao Alzheimer, quando administrado pioglitazona é possível perceber um aumento cognitivo. Nesse sentido, a pioglitazona apresenta atividade positiva no SNC ao melhorar a função neural.

Evidências clínicas e pré clínicas apontam que a pioglitazona pode fornecer neuroproteção em doenças neurodegenerativas (BLACKURN et. al., 2022). Abyadeh e colaboradores (2021) relatam em estudo que a pioglitazona demonstra ação

moduladora a resposta inflamatória além de contribuir com a redução das placas beta amiloides no alzheimer. Portanto o fármaco apresenta efeitos benéficos na cognição.

2.4 NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA

A nanotecnologia é um campo de pesquisa desde o século passado, quando foi apresentada pelo ganhador do Prêmio Nobel Richard P. Feynman durante sua famosa palestra de 1959 “Há muito espaço no fundo”, vários desenvolvimentos revolucionários ocorreram no campo da nanotecnologia (FEYNMAN, 1960).

A nanotecnologia farmacêutica é utilizada em diversos setores sendo eles, médico, alimentício e cosméticos. Os produtos são desenvolvidos em escala nanométrica com tamanhos que variam de 1 a 1000 nm, podem apresentar características físico-químicas ou efeito biológico diferentes quando são comparados a produtos com maior escala. O uso da nanotecnologia permite redução da dose do fármaco e melhora o seu efeito terapêutico, permite aumentar a biodisponibilidade e reduzir sua toxicidade (CAVALCANTI; LIRA-NOGUEIRA, 2020), além de liberação controlada e direcionamento do fármaco nos locais da doença (XU et al., 2018).

O desenvolvimento de um sistema de entrega de fármaco ideal que consiste em um índice terapêutico aumentado, eficácia terapêutica aumentada, biocompatibilidade, liberação controlada, efeitos colaterais reduzidos e adesão melhorada do paciente é uma área muito necessária na farmácia e na medicina. A principal preocupação acima foi devotada a aumentar o índice terapêutico de um sistema de entrega de fármacos (PATRA et al., 2015). Um índice terapêutico de sucesso é alcançado quando o fármaco apresenta um direcionamento ao alvo podendo ser um órgão, tecido ou células específicas, estes alvos permitem a diminuição dos efeitos colaterais e toxicidade, assim reduzindo as doses diárias. Essas vantagens são encontradas em sistemas sítio-específicos (WILLIAMS; JAMES; HELLER, 2016).

O processo de liberação controlada de moléculas de fármaco tem sido realizado utilizando misturas de polímeros (MANJU; SHARMA; SREENIVASAN, 2011; MANCARELLA et al., 2015), hidrogéis (VASHIST et al., 2014), nanopartículas incorporadas de hidrogel (DAVARAN et al., 2014; BIONDI et al., 2015), micropartículas, nanopartículas poliméricas (WU et al., 2013; RASHID et al., 2016) e lipossomas (MEN et al., 2020).

Atualmente uma das abordagens para controlar a liberação do medicamento é a incorporação do fármaco em um substrato com propriedades químicas, biológicas e mecânicas específicas (BERNKOP-SCHNÜRCH; DÜNNHAUPT, 2012; MANICKAVASAGAM et al., 2016).

Em muitas das estratégias de projeto de drogas, a liberação controlada da droga no local alvo foi alcançada pela mudança dos fatores ambientais, como temperatura ou pH (REJINOLD et al., 2011). A significância do fator de pH tem sido usada para a entrega de drogas, particularmente nos locais de células tumorais (REJINOLD et al., 2011; DAVARAN et al., 2014; PATRA et al., 2015). Como resultado, o uso de sistemas carregado de fármacos sensíveis ao pH ganhou consideração significativa ao longo dos anos (BAMI et al., 2021; LIU et al., 2014; FENG et al., 2014).

Recentemente, a liberação controlada de fármacos se tornou uma das áreas de pesquisa mais fascinantes (ALEMDAR, 2016; SUN et al., 2016). Durante as últimas décadas, muito esforço foi feito para desenvolver novos sistemas de liberação de fármacos com biodisponibilidade, eficácia e segurança aprimoradas, tempo de liberação controlada e prolongado e resposta terapêutica previsível (ALVAREZ-LORENZO et al., 2013). Na verdade, um sistema de liberação eficiente deve transportar as moléculas de medicamento desejadas para as células ou tecidos-alvo e liberar o medicamento de maneira controlada (SUR, et al., 2019). Sendo assim, a nanotecnologia promete além de direcionamento também o controle de liberação do fármaco (WILLIAMS; JAMES; HELLER, 2016).

Atualmente esses sistemas desempenham papel importante contra diversas doenças como o câncer por exemplo e na detecção de doenças neurodegenerativas como o Alzheimer, Parkinson e Diabetes Mellitus, além da detecção de vírus e microorganismos (THIRUVENGADAM; RAJAKUMAR; CHUNG, 2018).

2.4.1 Nanopartículas

As nanopartículas despertaram atenção a partir de 1980 apresentando sua capacidade de liberação controlada de fármacos um fator relevante para o sucesso dos parâmetros farmacêuticos e farmacocinéticos (PAULUK; PADILHA; KHALIL; MAINARDES, 2019).

As nanopartículas como carreadores de fármacos, apresentam capacidade para liberação controlada, que permite o carregamento eficiente do fármaco dentro do

nanocarreador além de reduzir a toxicidade sistêmica e melhorar a biodisponibilidade e índice terapêutico (ABDELGHANY; EL-DESOUKY; SHEMIS, 2021). Alguns estudos realizaram a produção de sistemas baseados em nanopartículas explorando seu potencial como de liberação controlada de drogas (LOKHANDE et al., 2013; KULKARNI et al., 2014).

A entrega de fármacos convencionais, proteínas e vacinas, pode acontecer por meio de nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas, lipossomas e dendrímeros (DMOUR; TAHA, 2018). O conceito de entrega direcionada depende da interação entre o sítio direcionado, sistema carreador e a droga terapêutica (MIRGANI et al., 2014; PATRA et al., 2015).

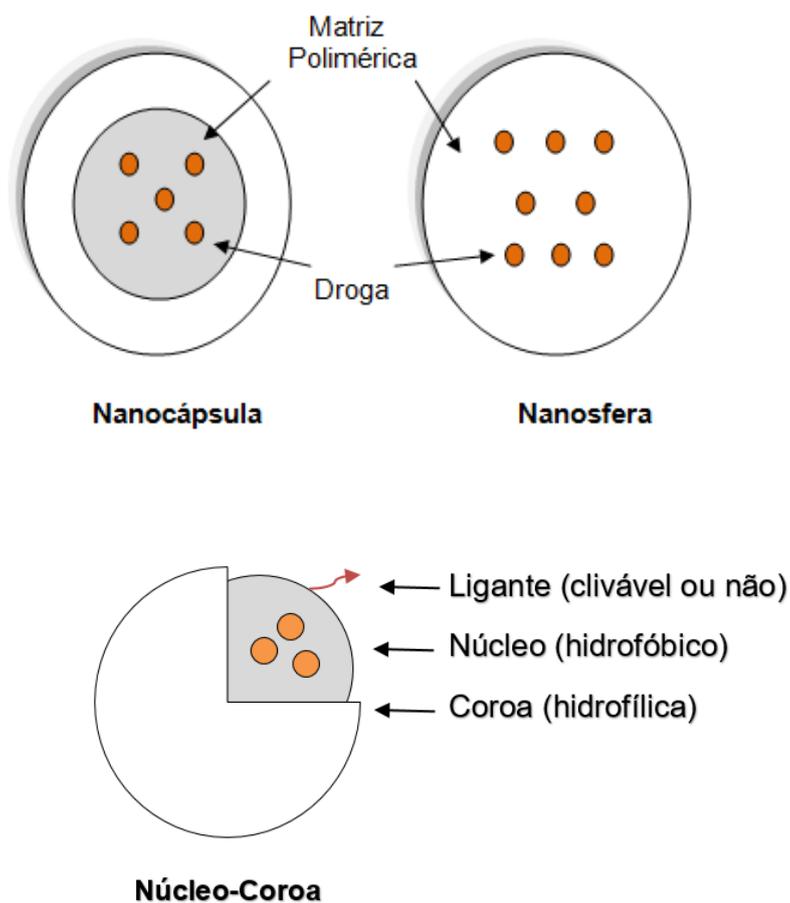
As nanopartículas poliméricas são reconhecidos como sistema de reservatório (nanocápsula) e sistema de matriz (nanosfera) (ZIELINSKA et al., 2020), como pode ser observado na **Figura 2**. As nanocápsulas são compostas por um núcleo oleoso no qual o fármaco é normalmente dissolvido, circundado por um invólucro polimérico que controla o perfil de liberação do fármaco a partir do núcleo. As nanocápsulas apresentam potencial para carregar fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos (URIMI et al., 2021; SUR et al., 2019) Já as nanosferas são baseadas em uma rede polimérica contínua na qual o fármaco pode ser retido em seu interior ou adsorvido em sua superfície (CRUCHO; BARROS, 2017; SUR et al., 2019).

As nanopartículas poliméricas núcleo-coroa (**Figura 2**) apresentam estruturas compostas de três camadas, ou seja, (a) a camada superficial, que pode ser funcionalizada com uma variedade de pequenas moléculas, íons metálicos, surfactantes e polímeros. (b) A camada da coroa, que é um material quimicamente diferente do núcleo em todos os aspectos, e (c) O núcleo, que é essencialmente a parte central da NP (SHIN et al., 2016). As nanopartículas núcleo-coroa podem apresentar ligantes ou anticorpos na superfície com o objetivo de direcionamento ao alvo, a fim de reduzir os efeitos colaterais do fármaco esta estratégia é importante principalmente para os fármacos antitumorais (LI et al., 2020).

Pelas características tão excepcionais das NPs tipo núcleo-coroa, elas despertaram grande interesse dos pesquisadores em áreas multidisciplinares. As nanopartículas podem ser empregadas em sistemas de liberação controlada (LEE et al., 2011), detecção química e biológica (BARRAK et al., 2016), detecção de gás

(MANSHA et al., 2016; KHAN; YAMANI; QURASHI, 2017), captura de CO₂ (GANESH et al., 2017) e outras aplicações na física, química e biologia, principalmente na saúde – diagnóstico e terapêutica (SHAALAN et al., 2016).

Figura 2- Representação estrutural da nanocápsula, nanosfera e núcleo-coroa



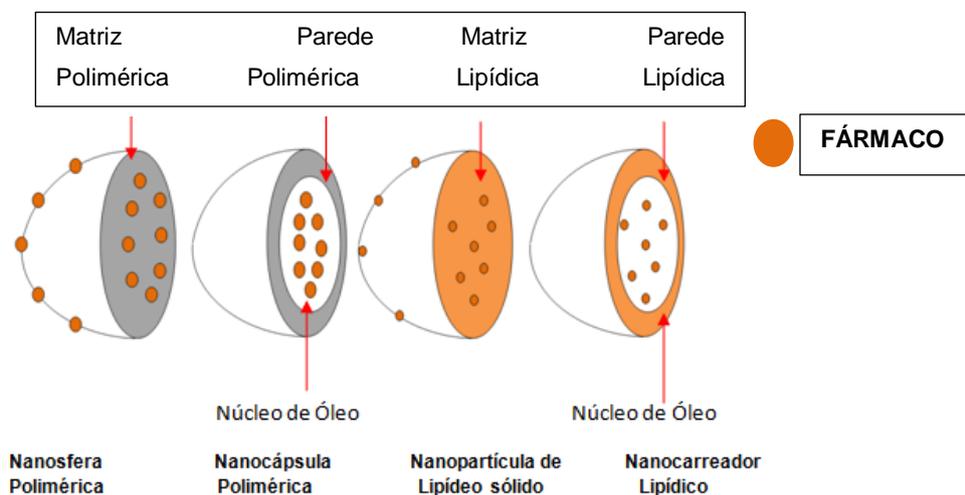
Fonte: Criado por SIQUEIRA, 2022.

As nanopartículas são uma ampla classe que incluem substâncias particuladas, que variam em tamanho de 10 a 1000 nm (LAURENT et al., 2010). Dependendo da forma geral, esses materiais podem ser 0D, 1D, 2D ou 3D (TIWARI; TIWARI; KIM, 2012).

O tamanho desses materiais podem influenciar as propriedades físico-químicas de uma substância, por exemplo, as propriedades ópticas de nanopartículas de ouro (Au), platina (Pt), prata (Ag) e paládio (Pd) de 20 nm têm cor vermelha vinho característica, cinza amarelado, preto e preto escuro, respectivamente. Essas

nanopartículas apresentaram cores e propriedades características com a variação de tamanho e forma, que podem ser utilizadas em aplicações de bioimagem (**Figura 3**) (DREADEN et al., 2012).

Figura 3- Principais nanopartículas para encapsulação de fármacos



Fonte: Criado por SIQUEIRA, 2022.

As nanopartículas poliméricas têm despertado considerável interesse nos últimos anos devido às suas propriedades decorrentes de seu pequeno tamanho (CANO et al., 2019; CANO et al., 2020).

As nanopartículas poliméricas são carreadores coloidais nos quais os fármacos são carregadas em estado sólido ou em solução, adsorvidas de forma não covalente ou quimicamente ligadas à superfície (SILVA et al., 2013). Esses sistemas de entrega oferecem boa estabilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e resposta imunogênica, sistema de liberação controlada e facilidade de produção (NAAHIDI et al., 2013).

Nos últimos anos, a pesquisa farmacêutica tem se concentrado no desenvolvimento de sistemas nanotecnológicos aplicáveis em diferentes campos da medicina, especialmente no campo de sistema de liberação controlada de medicamentos, o uso de nanopartículas polimérica representa um sistema alternativo com um enorme potencial para o sistema de liberação controlada (VHORA et al., 2015; BHATT et al., 2016).

Os polímeros usados nas nanopartículas são obtidos de fonte natural, sintética ou semissintética que pode ser biodegradável ou não biodegradável (PUGAZHENDHI

et al., 2018). A primeira nanopartícula polimérica foi composta de polímero não biodegradável, por exemplo, poliacrilamida, poliestireno, polimetilmetacrilato, entre outros, mas devido ao uso crônico dessas nanopartículas, muitas deficiências como toxicidade crônica e alta resposta imunológica contra as nanopartículas poliméricas não biodegradáveis foram observadas (RAMKUMAR et al., 2017).

Um polímero biodegradável é um polímero que sofre processos de degradação, sob certas condições específicas, esses biopolímeros podem se organizar em automontagens de dimensões nanométricas, o que lhes confere o nome de nanopartículas poliméricas (PRAJAPATI et al., 2019; ZHANG; HONG; PAN, 2018).

As nanopartículas poliméricas têm vantagens relacionados ao sistema de liberação controlada que vão desde a administração de fármacos não solúveis em água e proteção de compostos instáveis contra a degradação, bem como podem ser carregadas com fármacos por adsorção, dispersão na matriz polimérica ou encapsulamento (PRAJAPATI et al., 2019; RAO; EZHILARASI et al., 2013).

Nesse sentido, as nanopartículas poliméricas (NPs) são adequadas para a liberação de fármacos no SNC, pois são biodegradáveis e apresentam maior tempo de circulação. As nanopartículas poliméricas são versáteis podendo encapsular diversos fármacos por meio de interações hidrofílicas ou hidrofóbicas (ZHANG WEISEN et al., 2021).

2.5 ZEÍNA

A zeína é a principal proteína de armazenamento do milho e é responsável por quase metade do conteúdo protéico do grão de milho. A zeína pode ser obtida como um subproduto do processamento do amido e do etanol e foi aprovada para uso oral pela FDA em 1985 e classificou como geralmente reconhecido como seguro (GRAS). Além de ser considerada segura também apresenta baixa taxa de digestão. Suas vantagens são diversas para aplicações farmacêuticas como biodegradabilidade e biocompatibilidade in vivo e baixo custo (CHENG; JONES, 2017; LÚCIO et al., 2017).

A zeína é uma proteína natural que apresenta em sua composição diversos peptídeos sendo considerada heterogênea pode ser dividida em quatro frações: α -zeína que constitui 75-85% da proteína total com pesos moleculares (MWs) 20-21 e 10 kDa; β -zeína 10-15% da proteína e peso molecular 17-18 kDa; δ -zein 10% e peso molecular de 10 kDa; γ -zeína 5-10% e peso molecular 27 kDa (PENALVA et al., 2015).

Para uso comercial é utilizada a α -zeína com pouca quantidade de γ e β -zeína em sua composição, os diferentes aminoácidos na sua composição proporciona a sua capacidade polar e apolar o que confere seu caráter anfifílico. A zeína apresenta capacidade de auto-montagem devido a sua anfipaticidade e interações não covalentes, estas características são a principal força motriz na formação da rede de zeína (ZHANG XINRUI, 2021).

A zeína é insolúvel em água devido ao seu alto teor (>50%) de aminoácidos não polar, tornando-a uma das poucas proteínas que são insolúveis em água, mas solúveis em etanol (60-90%) ou soluções altamente alcalinas (WEISSMUELLER et al., 2016). Sua alta capacidade de biodegradabilidade e biocompatibilidade possibilita várias aplicações como nanofibras, emulsões, filmes compostos e nanopartículas de interesse farmacológico entre outros (LIMA et al., 2019).

A zeína apresenta características consideradas atraentes pela indústria farmacêutica e alimentícia, sendo possível a sua utilização para aplicação como revestimento e encapsulação (ALHAKAMY et al., 2021). Uma das características da nanopartícula de zeína que despertam interesse é a sua capacidade mucoadesiva que permite sua absorção na mucosa intestinal (INCHAURRAGA et al., 2019).

A zeína vêm sendo usada em sistemas nanoparticulados para a liberação de enzimas, medicamentos, óleos essenciais, entre outras substâncias (PARK CHAN; PARK DONG; KIM, 2015; WANG et al., 2017; GHALEI ASADI; GHALEI, 2018). Nesses casos, os sistemas de liberação controlada de medicamentos baseados em nanopartículas, como a zeína, podem prolongar e otimizar a liberação de medicamentos em relação às formulações convencionais. Além disso, a zeína apresenta características que facilitam sua transformação em nanopartícula, além de apresentar capacidade significativa para carregar biomacromoléculas sem que ocorra o comprometimento da sua integridade e atividade (WANG et al., 2017; MARTÍNEZ-LÓPEZ et al., 2021). Essa nanopartícula também apresenta capacidade de encapsular pequenas moléculas hidrofóbicas como por exemplo a glibenclamida (REBOREDO et al., 2021).

As nanopartículas de zeína podem formar nanopartículas coloidais esféricas (PAULUK et al., 2019). Em comparação com outros sistemas coloidais (nanoemulsão, lipossoma e micelas), as nanopartículas de zeína apresentam várias vantagens, como fácil preparação, evitam agentes sintéticos e tóxicos, alta probabilidade de produção

industrial em larga escala, biodegradabilidade e biocompatibilidade, além disso, as moléculas de proteína fornecem forte afinidade para bioativos e, portanto, têm uma alta eficiência de encapsulação e capacidade de carga (LI et al., 2019).

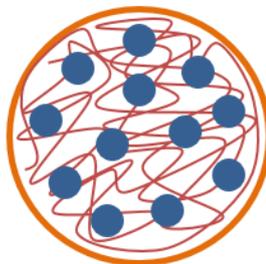
As nanopartículas de zeína simples, têm algumas desvantagens para aplicações comerciais, por exemplo, elas tendem a se agregar quando expostas a certas condições de pH, força iônica e temperatura. Estudos anteriores relataram que o desempenho funcional das nanopartículas de zeína revestidas com polissacarídeo sejam geralmente mais estáveis do que as não revestidas, elas ainda podem ser sensíveis a certas alterações em fatores ambientais, como mudanças no pH ou adição de sal (CHENG; JONES, 2017).

A agregação da nanopartícula de zeína ocorre quando o pH está próximo do ponto isoelétrico da zeína, porém o uso de estabilizadores podem evitar a agregação da partícula. Os estabilizadores como lisina, quitosana, alginato e caseína utilizados para revestir a partícula de zeína, tornam a partícula estável e resistente ao sistema gastrointestinal controlando a liberação do fármaco (HEEP et al., 2019; KHAN et al., 2019).

A lisina apresenta capacidade de estabilizar a nanopartícula (ZALNERAVCIUS et al., 2018) além de ser eficiente como ligante seletivo para adsorção. A lisina é um aminoácido composto por um grupo α -amino e um grupo carboxílico e uma cadeia lateral R (LE GUENIC, 2018). Considerada um aminoácido gerado pelo processo de fermentação a L-lisina apresenta caráter anfótero, logo propicia cargas negativas ou positivas em diferentes pH. O seu uso é diverso normalmente aplicada na indústria farmacêutica, indústria alimentícia e nos aditivos para rações (JING; WANG; TAN, 2018; MOGHADDAM et al., 2020).

Portanto, o uso da zeína no desenvolvimento de nanopartículas torna-se atrativa, pois a proteína apresenta a capacidade de incorporar diversos fármacos lipofílico e biomacromoléculas de forma não específica e protege o fármaco das enzimas digestivas (**Figura 4**). Os estudos demonstram que as nanopartículas propiciam melhora significativa da atividade farmacológica e biodisponibilidade relativa. Porém, ainda são necessários mais experimentos para validar e melhorar a eficácia das nanopartículas (INCHAURRAGA; MARTIN-ARBELLA; MARTÍNEZ-LÓPEZ; IRACHE, 2020).

Figura 4- Representação estrutural de nanosfera de zeína com fármaco na matriz polimérica



Fonte: Criado por SIQUEIRA, 2022.

Nesse sentido, a encapsulação da pioglitazona em nanopartículas de zeína pode reduzir a toxicidade e aumentar a sua biodisponibilidade. Na literatura a pioglitazona apresenta atividade para doenças neurodegenerativas. Assim, propomos a avaliação das caracterizações e da estabilidade deste nanocarreador delineado para agir contra diversos mecanismos patogênicos característicos do Alzheimer.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver nanopartículas revestidas com Zeína contendo pioglitazona, com atividade descrita na literatura contra a demência de Alzheimer.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e otimizar através de planejamento fatorial a produção de nanopartículas de zeína-lisina (ZNP);
- Preparar nanopartículas zeína-lisina contendo pioglitazona (PGZ-ZNP) ;
- Realizar a caracterização físico-química das nanopartículas desenvolvidas através da análise do tamanho e índice de polidispersão das partículas, potencial zeta, morfologia, taxa de encapsulação da pioglitazona e análise espectroscópica e análise térmica.

4 METODOLOGIA

4.1 PLANEJAMENTO FATORIAL BOX-BEHNKEN

Para o desenvolvimento da formulação de nanopartículas de zeína contendo a PZG, utilizou-se o planejamento fatorial Box-Behnken baseado na metodologia de Camas e colaboradores (2018) e adaptada para o desenvolvimento da nanopartícula com o objetivo de otimizar a composição das formulações. Foi identificado as variáveis que mais influenciam na estabilidade. O planejamento contém uma variável com ponto central sendo ela a amostra 5, totalizando 9 amostras que foram formuladas em triplicata buscando a otimização da formulação.

As proporções de zeína-lisina foram fundamentas nos estudos de Moreno e colaboradores (2017). A quantidade da proteína lisina (50mg) foi fixada nas formulações, pois nos testes de pré formulação foi observado que a medida que a quantidade da lisina era variada foram observados a formação de precipitados. Portanto, definiu-se a variação apenas da zeína e volume aquoso.

Tabela 1-Planejamento Fatorial Box-Behnken

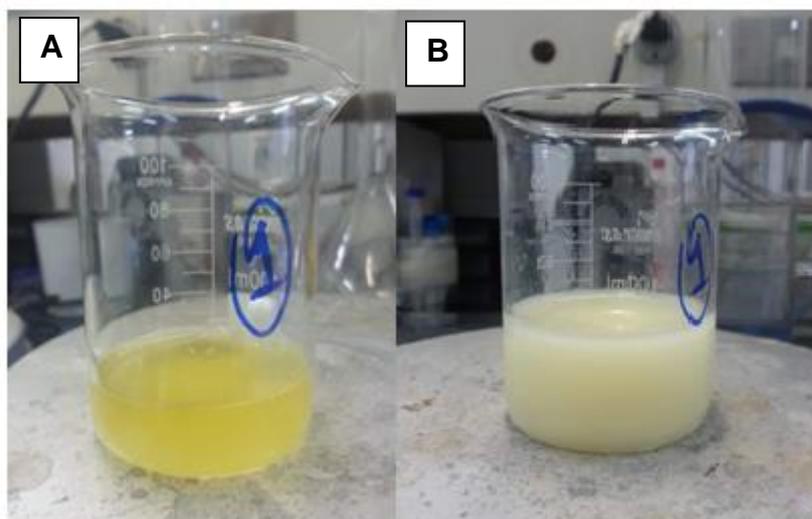
Run	Zeína:Lisina (mg)	Volume (mL)	Zeína:Lisina (mg)	Volume (mL)	Código da formulação
1	0	1	03:01	25	F1
2	0	0	03:01	20	F2
3	1	1	04:01	25	F3
4	-1	-1	02:01	15	F4
5	0	-1	03:01	15	F5
6	1	0	04:01	20	F6
7	1	-1	04:01	15	F7
8	-1	1	02:01	25	F8
9	-1	0	02:01	20	F9

4.2 PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULA CONTENDO PIOGLITAZONA

As nanopartículas de zeína foram preparadas por meio do método de nanoprecipitação (SUN et al., 2016). Para encapsular o fármaco foi utilizada a proporção de zeína:lisina de 150:50 (3:1) mg uma metodologia adaptada de Moreno e colaboradores (2017) foi solubilizada em 12,2 mL de álcool 70% (PENALVA et al. 2017). Posteriormente foram para a agitação magnética. Em outro béquer, 22 mg de

Pioglitazona foi solubilizada em 9,8 mL de etanol. Em seguida as soluções permaneceram sob agitação magnética com velocidade constante (1200 rpm) por 1 hora. Em seguida, as soluções foram colocadas no mesmo béquer (**Figura 5A**) resultando em um volume final de 22 mL, o volume aquoso foi adaptado para facilitar os cálculos, mas foi mantido próximo do volume utilizado no Box-Behnken de 20 mL. Posteriormente, 22 mL de água ultrapura (Milli Q®, Millipore, USA) foi adicionado a suspensão por meio do método de gotejamento, com o auxílio de uma seringa. A suspensão apresentou cor branca amarelada e leitosa (**Figura 5B**). Em seguida foi evaporado o solvente pelo método de rotaevaporação com volume final de 20 mL. Em seguida a formulação foi liofilizada com a utilização de manitol como crioprotetor.

Figura 5- (A) Zeína, lisina e fármaco; (B) nanopartícula PGZ-ZNP



4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

4.3.1 Diâmetro, Índice de Polidispersão e carga de superfície

O diâmetro hidrodinâmico, a distribuição do tamanho e o potencial zeta das nanopartículas foram determinados usando Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, RU). Para a obtenção dos resultados a diluição das formulações foi realizada com água ultrapura (Milli Q®, Millipore, USA) a proporção utilizada foi 50 μL de formulação para 950 μL de água ultrapura v/v e analisadas triplicata. Os dados foram expressos pelo valor médio do desvio padrão.

4.3.2 Taxa de encapsulação da PGZ

A PGZ na formulação foi quantificada a partir da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando o equipamento HPLC (Waters Alliance 2695 Separation Module) acoplado a um detector UV/Vis (2489 UV-Vis detector). Baseado no método desenvolvido por Abreu e colaboradores (2017) e Farmacopéia americana (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA-USP, 2011) para quantificação de pioglitazona em nanopartículas, onde o comprimento de onda para a detecção da pioglitazona foi de 269 nm.

A cromatográfica realizada utilizou a fase móvel com acetonitrila:acetato de amônio:ácido acético na proporção de 75:25:2, temperatura da coluna de 30 ° C, a taxa de fluxo de 0,7mL/min foi ajustada para o tempo de retenção da pioglitazona, e o eluente foi monitorado em um comprimento de onda de 269 nm (o comprimento de onda no qual a PGZ têm absorvância apropriada). A separação foi feita usando uma coluna Inertsil C 18 e o volume da injeção foi de 50µL.

Inicialmente foi elaborada uma curva analítica da PGZ. Foram pesadas 5mg de PGZ e diluída em 25 mL de metanol para a obtenção da solução mãe com concentração de 200 µg/mL. Posteriormente foi completada para um volume de 5mL com fase móvel acetonitrila:acetato de amônio:ácido acético glacial na proporção de 75:25:2 v/v. As concentrações para a obtenção da curva padrão foram 10; 30; 50; 70; 90 e 110 µg/mL e os parâmetros inseridos no HPLC foram de acordo com o método validado por Silva-Abreu e colaboradores (2017).

A quantificação da PGZ na nanopartícula foi efetuada a partir da dissolução da nanopartícula com álcool 70% e quantificado por HPLC-UV (MORENO et al; 2017). Para a taxa de encapsulação foi considerado o valor de 100% da PGZ na formulação antes da centrifugação da PGZ-ZNP (teor). Com a diferença da concentração antes e pós a centrifugação foi possível obter a taxa de encapsulação da PGZ. Após a centrifugação foi retirado o sobrenadante (PGZ livre) e adicionado álcool 70% para dissolver a PGZ no pellet (PGZ dentro), em seguida o fármaco obtido após a centrifugação foi quantificado e a taxa de encapsulação calculada, de acordo com a metodologia previamente utilizada por CANCHI e colaboradores (2017) e MATÍAS e colaboradores (2020).

4.3.3 Morfologia da nanopartícula

A morfologia das nanopartículas foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica do LIKA. Para análise morfológica das nanopartículas foi utilizado a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A nanopartícula foi formulada e colocada nos stubs e sua secagem foi por 24h em estufa para posterior serem metalizadas com ouro e paladiumapós o processo de preparação foi realizada a observação no microscópio eletrônico de varredura (TESCAN, MIRA3).

4.3.4 Análise espectroscópica

A avaliação físico-química da nanopartícula ZNP e PGZ-ZNP e fármaco livre foi realizada através de análises da Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) na região de 4000- 400 cm^{-1} no equipamento FT-IR/FT-NIR (PerkinElmer, Spectrum 400). Os resultados foram processados no *Software Origin 8* (OriginLab Northampton, USA). As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química-USP.

4.3.5 Análise Térmica

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) (PERKIN ELMER, STA 6000) da ZNP e da PGZ-ZNP foi obtida a partir da análise térmica. Foram utilizados 4mg de amostra a temperatura de 25-300 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Os resultados foram processados no *Software Origin 8* (OriginLab Northampton, USA). As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química-USP.

4.4 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS

A metodologia para análise da estabilidade foi baseada no estudo de Yao e colaboradores (2019) com adaptações. As formulações de nanopartículas em dispersão foram conservadas em geladeira à temperatura de 4 $^{\circ}\text{C}$ e as nanopartículas liofilizadas foram armazenadas em dessecador com sílica à temperatura ambiente e ressuspensas em água ultrapura (Milli Q®, Millipore, USA). Ambas nanopartículas foram analisadas no primeiro dia após da formulação, com 2 meses e por último com 12 meses. Durante esse tempo pré determinado foram verificados pH e parâmetros físico-químicos como diâmetro, pdi e potencial zeta.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PLANEJAMENTO FATORIAL BOX-BEHNKEN

Inicialmente, diferentes proporções entre os componentes foram testadas para obtenção da formulação otimizada. O planejamento Box-Benhken foi utilizado para otimizar esta formulação, o qual foi estudado duas variáveis a razão entre zeína:lisina e o volume, posteriormente foram avaliadas tamanho, PDI e potencial zeta cujos resultados estão apresentados na **Tabela 2**. O planejamento foi realizado a fim de verificar a influência das variáveis analisadas para estabelecer qual formulação ideal para utilizar.

A utilização desse tipo de planejamento torna-se vantajosa por apresentar boa eficiência e requer poucas combinações, pois o desing utiliza três níveis (-1, 0 e +1) mais o número de formulação/experimentos necessários para a sua execução.

Tabela 2- Planejamento fatorial: formulação, volume, diâmetro e potencial zeta das nanopartículas de zeína-lisina (ZNP)

Formulação	Volume da fase aquosa (mL)	Diâmetro de Partículas (nm)	PDI	Pontencial Zeta (mV)
F1	25	186,4±1,0	0,075	-46,7±2,8
F2	20	197,1±2,3	0,061	-50±3,6
F3	25	201,9±3,3	0,101	-48,3±2,9
F4	15	200±1,3	0,076	-49,6±2,4
F5	15	206,1±2,0	0,094	-47,7±2,1
F6	20	218±2,4	0,084	-51,5±2,2
F7	15	247,2±1,4	0,110	-49,4±2,1
F8	25	181,4±3,0	0,094	-47,6±2,3
F9	20	169,83±7,2	0,066	-49,5±2,3

Tendo em vista que a formulação com proporção de zeína-lisina 03:01 com volume de 20 ml de fase aquosa apresentou PDI 0,061 e diâmetro 197,1 ± 2,3, esta formulação não apresentou aglomerados quando a pioglitazona foi adicionada. Sendo assim, considerada a que apresenta menor risco de formação de aglomerados por

apresentar valores mais estáveis, com isso a formulação foi escolhida para encapsular a pioglitazona.

O PDI é um parâmetro utilizado para verificar a homogeneidade na distribuição do tamanho das partículas. Os valores de PDI entre 0 e 0,300 indicam uma distribuição de tamanho relativamente homogêneo, e em valores menores que 0,200 garantem estabilidade da dispersão coloidal, sem formação de aglomerados ou precipitados (JUMMES et al., 2020; DE SOUZA et al., 2022). Assim, o presente estudo também corrobora com os valores obtidos nas nanopartículas para direcionamento ao SNC desenvolvidas no estudo de Sharma e colaboradores (2014) e Teixeira e colaboradores (2022), sendo os valores do PDI abaixo de 0,3.

5.2 NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA-LISINA CONTENDO PIOGLITAZONA (PGZ-ZNP)

As características físico-químicas, tais como diâmetro médio, o índice de polidispersão e potencial zeta, constituem importantes parâmetros no que diz respeito à estabilidade e propriedades biológicas dos nanosistemas desenvolvidos (HOMAYOOFAL et al., 2021). Os diâmetros médios, potenciais zeta e PDI das nanopartículas ZNP, PGZ-ZNP (redispersa) e PGZ-ZNP (em dispersão) obtidas pela técnica de nanoprecipitação estão listados na **Tabela 3**.

Os resultados obtidos apresentaram diâmetros médios das diferentes nanopartículas $170,16 \pm 7,7$ a $209,5 \pm 9,0$ nm. As nanopartículas liofilizadas de zeína encapsuladas com pioglitazona (PGZ-ZNP redispersa) foram maiores do que as demais nanopartículas preparadas neste estudo $209,5 \pm 9,0$ nm.

O estudo de Podaralla e Perumal (2012) obtiveram diâmetros das partículas de zeína entre 200 nm e 300 nm, assim as PGZ-ZNP apresentam nanopartículas que corroboram com os autores.

O diâmetro da partícula pode se dar devido às xantofilas que se ligam à zeína elas alteram a solubilidade da zeína e do fármaco (PODARALLA; PERUMAL, 2012).

Nanopartículas com menores diâmetros são menos susceptíveis ao sistema de fagocitose mononuclear, aumentando o tempo de circulação no organismo e a eficácia da liberação de um ativo, e conseguem penetrar entre lacunas endoteliais com maior facilidade, atingindo os tecidos-alvos (GAUMET et al., 2008; PARMAR; PATEL, 2019).

Para Hatakana e colaboradores (2010) o potencial zeta é indubitável para a avaliação da estabilidade eletrostática de um sistema coloidal. Sendo que, quando um potencial zeta é negativo é possível prever uma boa estabilidade coloidal por apresentar barreira de alta energia entre as partículas.

Teleanu e colaboradores (2019) desenvolveram nanopartículas com características físico-químicas estáveis para o SNC. As NPs apresentavam potencial zeta com carga negativa, diâmetro médio menor que 200 nm e pdi menor que 0,1. As características físico-químicas da NP permitiram o seu cruzamento pela barreira hematoencefálica in vivo e in vitro, além disso as NPs demonstraram atividade no SNC.

No presente estudo, os resultados corroboram com a literatura. Todos os sistemas avaliados obtiveram densidades elétricas superficiais negativas. Portanto, de acordo com a **Tabela 3**, os valores do potencial zeta da PGZ-ZNP redispersa foi $-45,5 \pm 3,2$ e PGZ-ZNP em dispersão $-43,2 \pm 3,0$. Assim, indicam que as nanopartículas apresentaram uma boa estabilidade, confirmando que o método utilizado de automontagem garantiu estabilidade às mesmas.

Os resultados de PDI (**Tabela 3**) apresentaram valores entre 0,066 ZNP e 0,102 PGZ-ZNP (redispersa) e 0,061 PGZ-ZNP (em dispersão), o que indica estabilidade da dispersão coloidal, sem formação de aglomerados ou precipitados.

Tabela 3- Diâmetro de partículas, PDI, potencial zeta e taxa de encapsulação de PGZ-ZNP

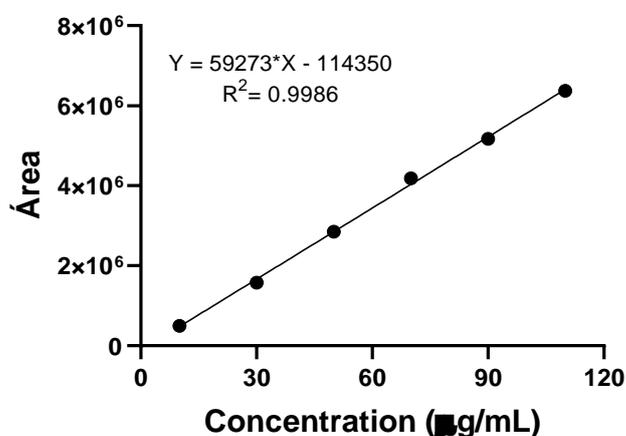
Formulações	[PGZ] (mg/ml)	Diâmetro de Partículas (nm)	PDI	Potencial Zeta (mV)	PGZ (%)
ZNP	-	170,16±7,7	0,066	-36,6±1,5	
ZNPPGZ (redispersa)	1	200,6±1,4	0,102	-45,5±3,2	103,84±28
ZNPPGZ (em dispersão)	1	189,7±1,9	0,061	-43,2±3,0	

5.3 QUANTIFICAÇÃO DA PIOGLITAZONA NA NANOPARTÍCULA

Para a quantificação da pioglitazona a **Figura 6** representa a curva analítica junto da equação gerada com a utilização da regressão linear, para as nanopartículas de Zeína encapsuladas com pioglitazona, considerando a concentração de 1 mg/mL de pioglitazona.

Considerando o cálculo a partir da regressão linear da curva analítica, foi obtido o resultado para o limite de quantificação referentes ao ativo estudado, cujo valor está apresentado na **Figura 6**. O valor coeficiente de correlação obtidos é superior a 0,99, refletindo a linearidade do método, assim os parâmetros obtidos são considerados satisfatórios, pois o resultado apresentado pelos métodos analíticos conseguem atender o que exige os órgãos reguladores como o INMETRO (2011) e a ANVISA (2003). Então, considera-se que dentro do espaço da concentração analisado, esse método apresentou-se linear e específico, considerando-se, dessa forma, adequado na quantificação do ativo nas fórmulas de nanopartículas.

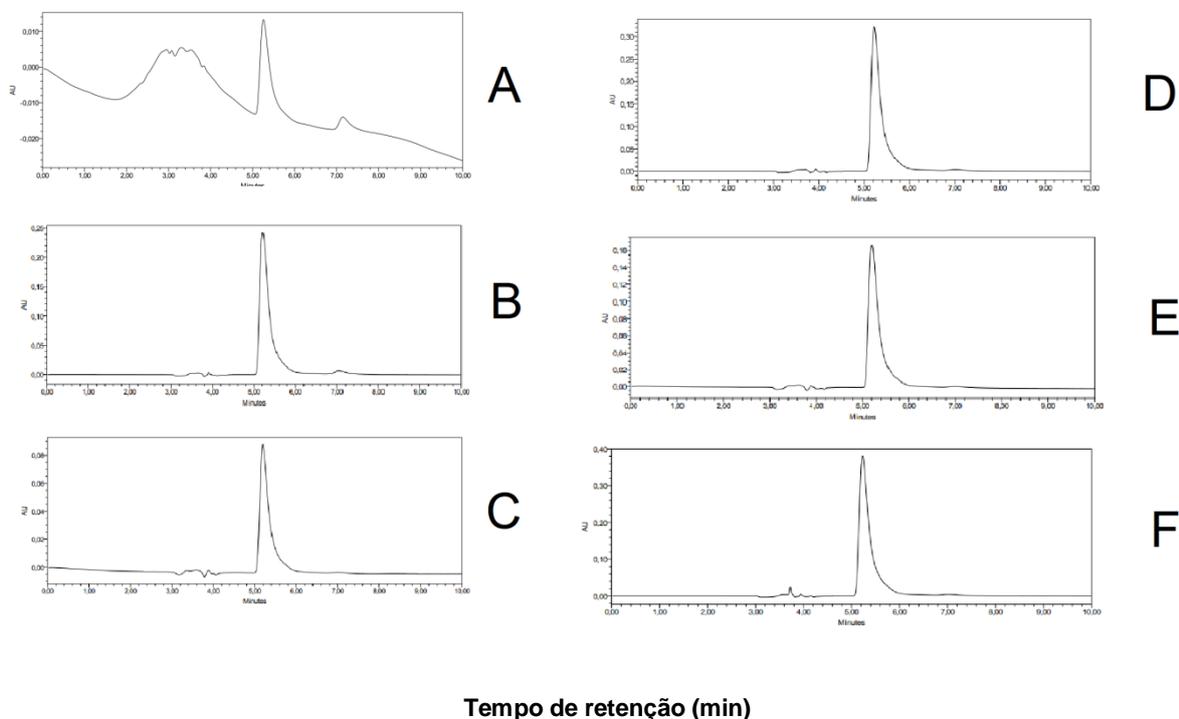
Figura 6- Curva analítica da PGZ



Os métodos cromatográficos são amplamente utilizados para a análise quantitativa dos perfis de liberação de fármacos, portanto, o estabelecimento e a validação de um método de HPLC eficiente, robusto e confiável para rastrear a taxa de liberação da pioglitazona foi um dos objetivos deste estudo. Diferentes concentrações da pioglitazona foram testadas.

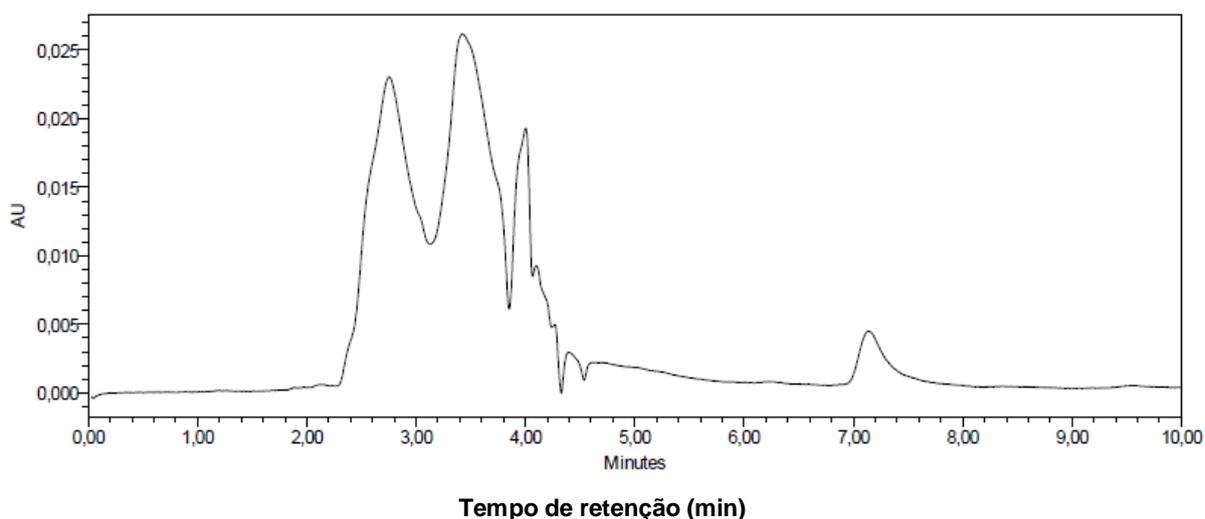
No presente estudo o pico no cromatograma a pioglitazona e suas diferentes concentrações apresenta um pico no tempo de retenção de 5,2 minutos (**Figura 7**), corroborando com estudos realizados anteriormente em que o pico apresenta no tempo de retenção entre 5 e 7 min (SILVA-ABREU et al., 2017; SIELC, 2020). É possível evidenciar o pico da zeína antes do aparecimento do pico da pioglitazona (**Figura 8 e Figura 9**). Apesar da zeína está na formulação não houve interferências significativas.

Figura 7-Cromatograma da PGZ nas concentrações de 10 μ g/mL (A), 30 μ g/mL (B), 50 μ g/mL (C), 70 μ g/mL (D), 90 μ g/mL (E), 110 μ g/mL (F)



Diluídas em acetonitrila:acetato de amônio:ácido acético 75:25:2 v/v. Tempo de retenção eixo X e absorbância AU eixo Y

Figura 8 - Cromatograma das nanopartículas ZNP em concentração 70 μ g/mL (D)

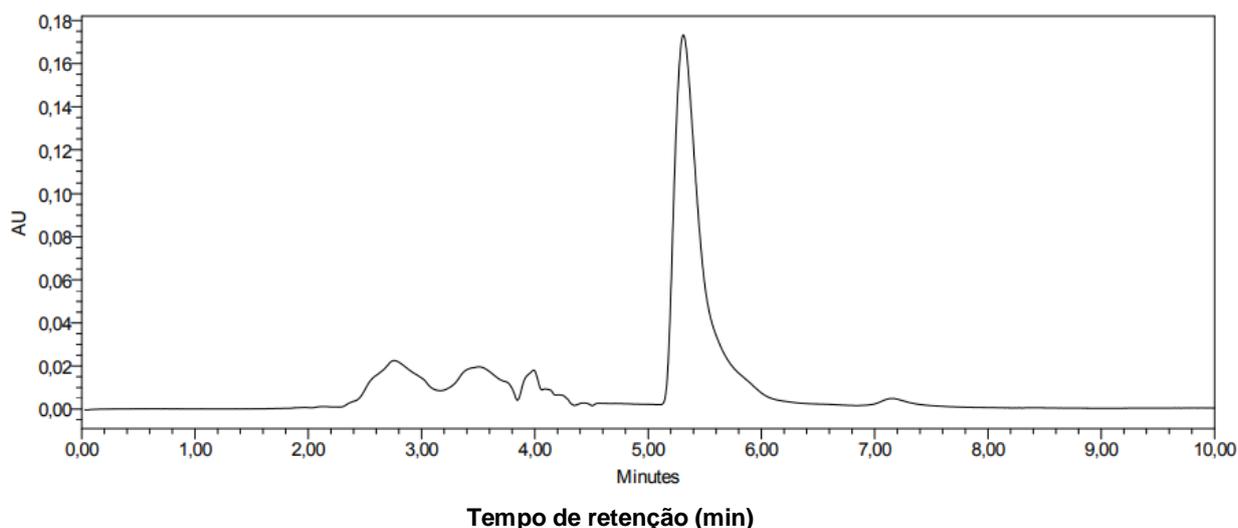


O método utilizado por Canchi e colaboradores (2017) para a centrifugação da PGZ-ZNP, foi um método eficaz que possibilitou a separação da pioglitazona da zeína para a quantificação do fármaco por HPLC como demonstrado na **Tabela 1**. A taxa de

encapsulação de $103,84 \pm 2,8$ a uma concentração de 1mg/mL, apresentou taxa de encapsulação superior quando comparadas ao estudo de ROJEWSKA e colaboradores (2020) e Gupta e colaboradores (2021).

Pascoli e colaboradores (2018) demonstram em seu estudo que a encapsulação satisfatória se dar a escolha da técnica utilizada para a formação da nanopartícula, sendo fator primordial para alta taxa de encapsulação.

Figura 9 – Cromatograma das nanopartículas PGZ-ZNP em concentração de 70 $\mu\text{g/mL(D)}$



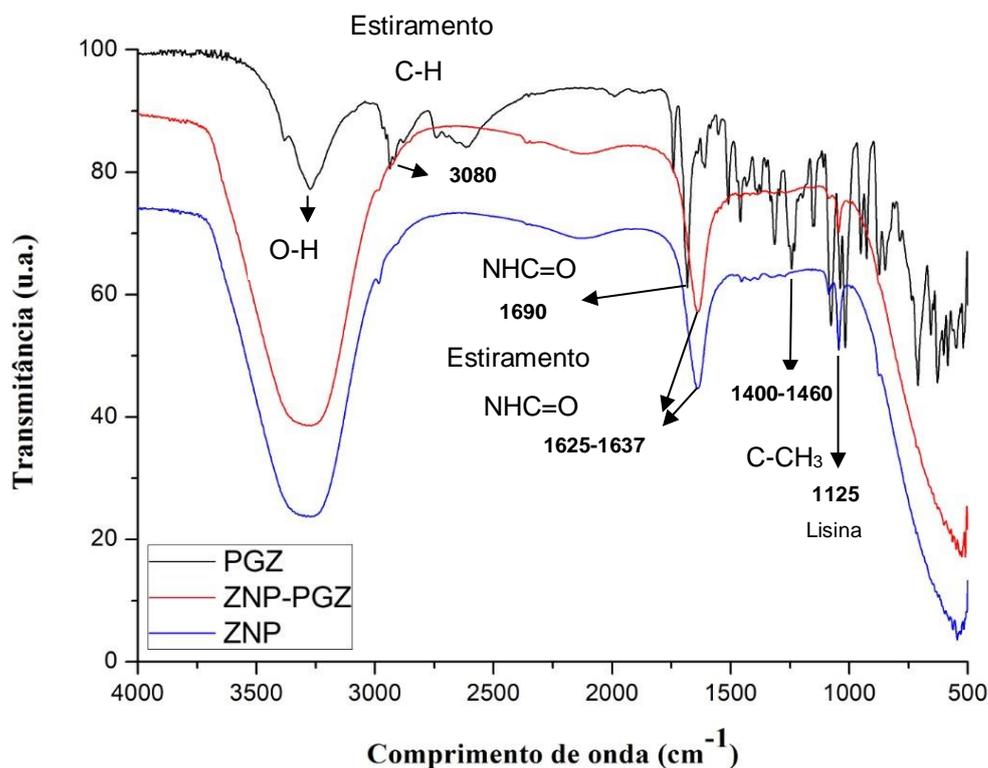
Apesar de alguns estudos relatarem que as xantofilas que se ligam à zeína afetam a solubilidade da zeína e da droga e conseqüentemente ocasionam menor encapsulação do fármaco (PODARALLA; PERUMAL, 2012). No presente estudo não ocorreu interferências significativas.

5.4 ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA

A técnica espectroscópica permitiu identificar as bandas de absorção que evidenciam a pioglitazona (**Figura 10**), corroborando com os resultados apresentados por Bhosale et al. (2016) e Kovvasu e Chowdary (2018). No espectro podemos observar uma banda de absorção na região de 1690 cm^{-1} referente ao grupo NH-C=O . As bandas de absorção na região 3080 cm^{-1} representa o estiramento C-H com presença de anel aromático o que corrobora com a estrutura química da molécula da pioglitazona. Segundo Nayak e colaboradores (2018) os diferentes picos como por

exemplo C-H e O-H são referentes ao benzeno e confirmam a presença do fármaco puro.

Figura 10 - Espectro de FT-IR da Pioglitazona, nanopartícula de Zeína (ZNP) e nanopartícula de Zeína contendo Pioglitazona (PGZ-ZNP)



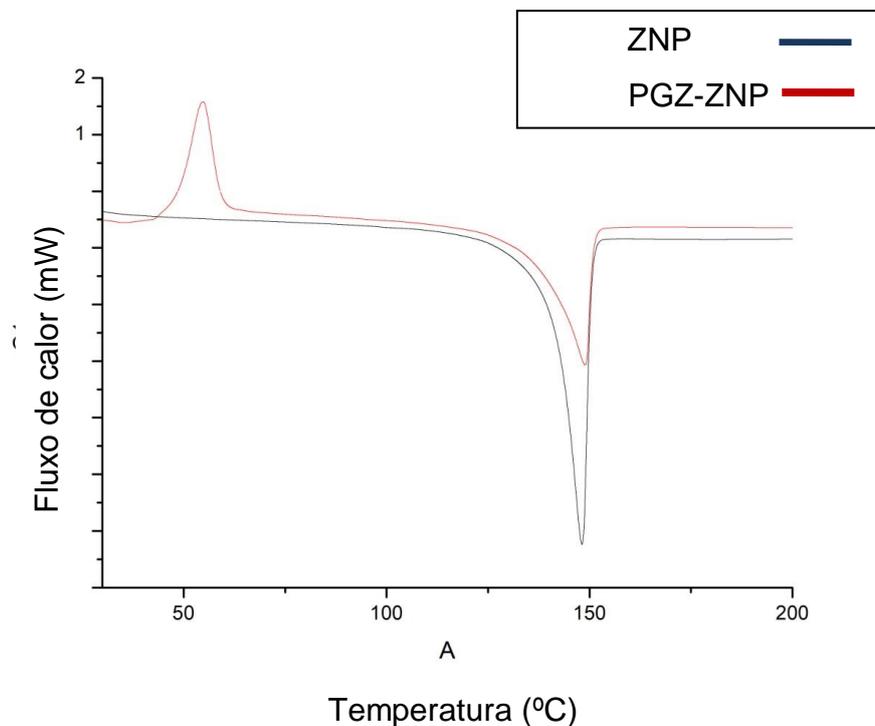
O espectro obtido das ZNP e ZNP-PGZ (**Figura 10**) apresentam bandas de absorção 1625-1637 cm⁻¹ referente ao agrupamento amida (NH) associada ao estiramento C=O, outra banda de absorção também possível de observar no espectro foi na região de 1125 referente a presença da lisina. As bandas que evidenciam a zeína e a lisina estão de acordo com as bandas de absorção presente no estudo de Reboredo e colaboradores (2021) referente as nanopartículas de zeína-lisina. A ausência das bandas de absorção da pioglitazona na formulação ZNP-PGZ, indicam que não houve interação entre o fármaco e o polímero, além de, sugerirem que o fármaco encontra-se encapsulado na nanopartícula.

5.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA

A técnica de análise térmica possibilitou identificar a estabilidade térmica das formulações. A curva de DSC da ZNP (**Figura 11**) apresenta pico endotérmico na faixa

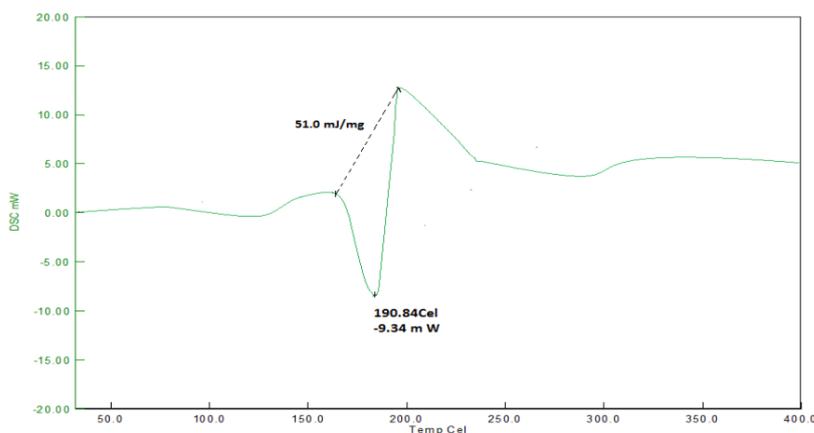
de 125-1500 °C referente a fusão da zeína, coerente com os estudos de Feng e colaboradores (2020). A PGZ-ZNP também apresentou um pico endotérmico da zeína na faixa de 152 °C.

Figura 11 - Calorimetria Diferencial de Varredura da ZNP e PGZ-ZNP



O estudo de Varshosaz e colaboradores (2018) demonstrou que o pico de fusão da pioglitazona esteve presente na faixa próxima a 190 °C, o que foi corroborado com os estudos dos autores Teaima e colaboradores (2022), onde o termograma da pioglitazona apresentou evento endotérmico na faixa de 197,3 °C, atribuído ao seu ponto de fusão e ao seu estado cristalino. Neste mesmo estudo os autores observaram que a pioglitazona quando na formulação apresentava-se solubilizada e protegida da precipitação, justificando assim a ausência dos picos referentes a sua cristalização no termograma.

Muzib e colaboradores (2021) realizaram a calorimetria diferencial de varredura (DSC) da pioglitazona, resultados obtidos foram semelhantes aos autores supra citados, o fármaco puro apresentou pico endotérmico na faixa de 190,84 °C.

Figura 12 - Calorimetria Diferencial de Varredura da pioglitazona

Fonte: MUZIBE; RAMYA; AMBEDKAR, 2021

Portanto, na **Figura 12** não foi possível observar pico endotérmico na faixa próxima a 190 °C, com isso indicando a efetiva encapsulação da pioglitazona nas partículas de zeína obtidas.

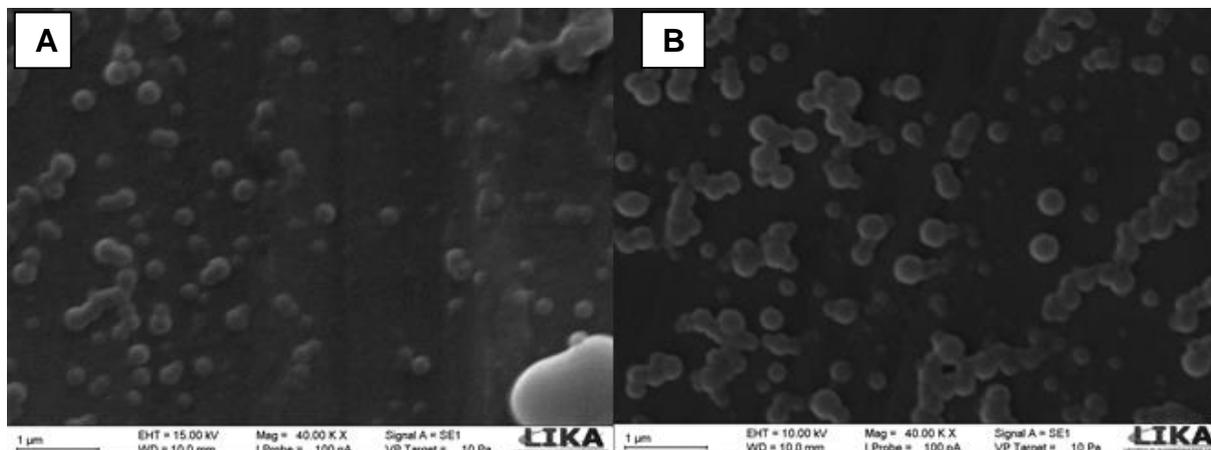
5.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA DA ZNP E PGZ-ZNP

As imagens obtidas por meio da microscopia eletrônica de varredura demonstraram partículas esféricas. As nanopartículas de zeína e as nanopartículas de zeína com pioglitazona ambas em dispersão, não apresentaram diferenças morfológicas (**Figura 13**). As partículas esféricas foram também observadas nas nanopartículas de zeína de Zhang Huaiying e colaboradores (2021).

As NPs esféricas são ideais para entregas de fármacos (DO et. al., 2020). Nowak e colaboradores (2020) relatam que a cascata de transporte por meio da barreira hematoenfática é caracterizada por unidade neurovascular formada por células endoteliais microvasculares, assim são caracterizadas difíceis de atravessar. O autores ainda relatam que as NPs esféricas com tamanho maior 100 nm e menor que 200 nm são ideais para o transporte, pois se associam as células endoteliais e são transportadas por elas.

Portando, em relação a forma esférica das NPs de zeína desenvolvidas no presente estudo e com diâmetro obtido conforme o zeta, elas são adequadas para aplicações ao SNC.

Figura 13 - Microfotografias das nanopartículas ZNP (A) e PGZ-ZNP (B) observadas por microscópio eletrônico de varredura



5.7 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS

A estabilidade das nanopartículas foram analisadas logo após o preparo da nanopartícula. A análise foi realizada após 2 meses e novamente após 12 meses. Os resultados obtidos mostraram que a PGZ-ZNP liofilizada/redispersa, se manteve estável durante todo período de armazenamento à temperatura de refrigeração (4 a 8°C).

A **Tabela 5** demonstra que o diâmetro da PGZ-ZNP liofilizada durante um período de 12 meses apresentou variação entre $196,7 \pm 6,1$ nm a $209,5 \pm 9,0$ nm, enquanto ao potencial zeta variou de $-40,13 \pm 6,2$ a $-54,2 \pm 2,6$ mV com um PDI 0,102 a 0,250. A PGZ-ZNP (em dispersão) apresentou variação no diâmetro entre $180,4 \pm 4,7$ a $206,5 \pm 2,3$ nm e carga de superfície $-38,1 \pm 1,2$ a $-50,3 \pm 1,1$ mV com um PDI 0,061 a 0,257.

Podaralla e Pemural (2012) analisaram a estabilidade da nanopartícula de zeína e evidenciaram que o tamanho da partícula aumenta à medida que o pH diminui, é possível evidenciar que acontece o mesmo com a PGZ-ZNP (**Tabela 4 e 5**).

Tabela 4- Acompanhamento do pH em um período de 12 meses armazenadas a temperatura de refrigeração de 4-8°C (em dispersão) e dessecador (liofilizada)

Parâmetros	PGZ-ZNP (em dispersão)			PGZ-ZNP (liofilizada/redispersa)		
	1° dia	2 meses	12 meses	1° dia	2 meses	12 meses
pH	9,37	9,10	8,67	8,56	8,49	8,19

Tabela 5- Diâmetro da partícula, potencial zeta e índice de polidispersão das nanopartículas PGZ-ZNP em diferentes tempos

Formulações	[PGZ] (mg/ml)	Diâmetro da Partícula(nm)	PDI	Potencial Zeta (mV)
1 ° dia				
PGZ-ZNP (em dispersão)	1	180,4±4,7	0,131	-38,1-±1,2
PGZ-ZNP (liofilizada/redispersa)	1	200,6±1,4	0,102	-45,5±3,2
2 Meses				
PGZ-ZNP (em dispersão)	1	189,7±1,9	0,061	-43,2±3,0
PGZ-ZNP (liofilizada/redispersa)	1	209,5±9,0	0,231	-40,13±6,2
12 Meses				
PGZ-ZNP (em dispersão)	1	206,5±2,3	0,257	-50,3±1,1
PGZ-ZNP (liofilizada/redispersa)	1	196,7±6,1	0,250	-54,2±2,6

5 CONCLUSÃO

A pioglitazona foi encapsulada em nanopartículas de zeína, sendo comprovada por meio das técnicas de microscopia eletrônica, espectroscopia e análise térmica, bem como pela determinação da taxa de encapsulação de encapsulação.

Além disso, as nanopartículas liofilizadas e em dispersão apresentaram-se estáveis durante o período de 12 meses, sem apresentarem alterações significativas no pH, potencial zeta, PDI e diâmetro da partículas.

Os resultados permitem concluir que as nanopartículas de zeína contendo pioglitazona apresentam características satisfatórias para futuros ensaios de avaliação do potencial terapêutico para as doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer.

No entanto, são necessários maiores estudos para investigar a segurança da administração da PGZ-ZNP, isto é, por via oral, endovenosa ou nasal. Portanto, o referente estudo de P&DI de PGZ-ZNP foi pioneiro para o desenvolvimento de futuras pesquisas.

REFERÊNCIAS

- ABDELGHANY, A.; EL-DESOUKY, M. A.; SHEMIS, M. Synthesis and characterization of amoxicillin-loaded polymeric nanocapsules as a drug delivery system targeting *Helicobacter pylori*. **Arab Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 4, p. 278-284, 2021.
- ABYADEH, M.; GUPTA, V.; GUPTA, V.; CHITRANSHI, N.; WU, Y.; AMIRKHANI, A.; MEYFOUR, A.; SHERIFF, S.; SHEN, T.; DHIMAN, K.; SALEKDEH, G. H.; HAYNES, P. A.; GRAHAM, S. L.; MIRZAEI, M. Comparative Analysis of Aducanumab, Zagotenemab and Pioglitazone as Targeted Treatment Strategies for Alzheimer's Disease. **Aging and disease**, v. 12, n. 8, 2021.
- AFZAL, H. R.; KHAN, N. U. H.; SULTANA, K.; MOBASHAR, A.; LAREB, A.; KHAN, A.; IMRAN, M. Schiff Bases of Pioglitazone Provide Better Antidiabetic and Potent Antioxidant Effect in a Streptozotocin–Nicotinamide-Induced Diabetic Rodent Model. **ACS omega**, v. 6, n. 6, p. 4470-4479, 2021.
- AGRAWAL, M.; SARAF, S.; SARAF, S.; DUBEY, S. K.; PURI, A.; GUPTA, U.; KESHARWANI, P.; RAVICHANDIRAN, V.; KUMAR, P.; NAIDU, V. G. M.; MURTY, U. S.; AJAZUDDINA.; ALEXANDER, A. Stimuli-responsive In situ gelling system for nose-to-brain drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 327, p. 235-265, 2020.
- ALEMDAR, N. Fabrication of a novel bone ash-reinforced gelatin/alginate/hyaluronic acid composite film for controlled drug delivery. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 1019-1026, 2016.
- ALHAKAMY, N.A. et al. Piceatannol-Loaded Bilosome-Stabilized Zein Protein Exhibits Enhanced Cytostatic and Apoptotic Activities in Lung Cancer Cells. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 5, 2021.
- ALVAREZ-LORENZO, C.; BLANCO-FERNANDEZ, B.; PUGA, A. M.; CONCHEIRO, A. Crosslinked ionic polysaccharides for stimuli-sensitive drug delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 9, p. 1148-1171, 2013.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION REPORT. "Alzheimer's disease facts and figures Alzheimer's Association" **Alzheimer's & Dementia**, vol. 11, p. 332–384, 2015.
- ANVISA. Resolução - Resolução nº 899. Brasília. 2003.
- ARIAS, J. L. **Nanotechnology and drug delivery, volume one: nanoplateforms in drug delivery**. CRC Press, 2014.
- AUDIRA, G.; ANH, N. T. N.; HIEU, B. T. N.; MALHOTRA, N.; SIREGAR, P.; VILLALOBOS, O.; VILLAFLORES, O. B.; GER, T-R.; HUANG, J-C.; CHEN, K. H-C.; HSIAO, C-D. Evaluation of the Adverse Effects of Chronic Exposure to Donepezil (An Acetylcholinesterase Inhibitor) in Adult Zebrafish by Behavioral and Biochemical Assessments. **Biomolecules**, v. 10, n. 9, 2020.
- AZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. About Alzheimer's & dementia. London, 2022.

BALAMURALIDHARA, V.; PRAMODKUMAR, T. M.; SRUJANA, N.; VENKATESH, M. P.; GUPTA, N. V.; KRISHNA, K. L.; GANGADHARAPPA, H. V. pH sensitive drug delivery systems: a review. **Am J Drug DiscovDev**, v. 1, n. 1, p. 25, 2011.

BARBU, E.; MOLNÀR, É.; TSIBOUKLIS, J.; GÓRECKI, D. C. The potential for nanoparticle-based drug delivery to the brain: overcoming the blood–brain barrier. **Expert opinion on drug delivery**, v. 6, n. 6, p. 553-565, 2009.

BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; DÜNNHAUPT, S. Chitosan-based drug delivery systems. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 81, n. 3, p. 463-469, 2012.

BHATT, P.; LALANI, R.; MASHRU, R.; MISRA, A. Anti-FSHR antibody Fab'fragment conjugated immunoliposomes loaded with cyclodextrin-paclitaxel complex for improved in vitro efficacy on ovarian cancer cells. 2016.

BHOSALE, U. M.; GALGATTE, U. C.; CHAUDHARI, P. D. Development of pioglitazone hydrochloride lipospheres by melt dispersion technique: Optimization and evaluation. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 1, p. 107-117, 2016.

BIANCHE, V. T. ; HERRERA, P. F. ; LAURA, R. Effect of nutrition on neurodegenerative diseases. A systematic review. A systematic review, *Nutritional Neuroscience*, v. 24, n. 10, p. 810-834, 2021.

BIONDI, M.; BORZACCHIELLO, A.; MAYOL, L.; AMBROSIO, L. Nanoparticle-integrated hydrogels as multifunctional composite materials for biomedical applications. **Gels**, v. 1, n. 2, p. 162-178, 2015.

BLACKBURN, J. K.; JAMWAL, S.; WANG, W.; ELSWORTH, J. D. Pioglitazone transiently stimulates paraoxonase-2 expression in male nonhuman primate brain: Implications for sex-specific therapeutics in neurodegenerative disorders, **Neurochemistry International**, v. 152, 2022.

BOFF, M. S.; SEKYIA, F. S.; BOTTINO, C. de C. Prevalence of dementia among brazilian population: systematic review. **Rev Med (São Paulo)**, v. 94, n. 3, p. 154-161, 2015.

BRAIN FACTS. The Blood Brain Barrier. Disponível em: <<http://www.brainfacts.org/brainbasics/neuroanatomy/articles2014/blood-brain-barrier>>. Acesso em: 28 de agosto de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2021.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, v. 25, n. 24, 2020.

CALZONI, E.; CESARETTI, A.; POLCHI, A.; DI MICHELE, A.; TANCINI, B.; EMILIANI, C. Biocompatible polymer nanoparticles for drug delivery applications in cancer and neurodegenerative disorder therapies. **Journal of functional biomaterials**, v. 10, n. 1, p. 4, 2019.

CAMAS, M.; CELIK, F.; CAMAS, A. S.; OZALP, H. B. Biosynthesis of gold nanoparticles using marine bacteria and Box–Behnken design optimization. **Particulate Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 31-38, 2018.

- CANCHI, A.; KHOSA, A.; SINGHVI, G.; BANERJEE, S.; DUBEY, S. K. Design and characterization of polymeric nanoparticles of pioglitazone hydrochloride and study the effect of formulation variables using QbD approach. **Current Nanomaterials**, v. 2, n. 3, p. 162-168, 2017.
- CANO, A.; SÁNCHEZ-LÓPEZ, E.; ETTCHETO, M.; LÓPEZ-MACHADO, A.; ESPINA, M.; SOUTO, E. B.; TUROWSKI, P. Current advances in the development of novel polymeric nanoparticles for the treatment of neurodegenerative diseases. **Nanomedicine**, v. 15, n. 12, p. 1239-1261, 2020.
- CANO, A.; ETTCHETO, M.; CHANG, J. H.; BARROSO, E.; ESPINA, M.; KÜHNE, B. A.; GARCÍA, M. L. Dual-drug loaded nanoparticles of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)/Ascorbic acid enhance the therapeutic efficacy of EGCG in a APP^{swE}/PS1^{dE9} Alzheimer's disease mouse model. **Journal of Controlled Release**, v. 301, p. 62-75, 2019.
- CAVALCANTI, I. D. L., LIRA-NOGUEIRA, M. C. B. Nanotecnologia farmacêutica: quais produtos foram desenvolvidos contra o COVID-19?. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 22, n. 9, pág. 1-11, 2020.
- CHENG, C. J.; JONES, O. G. Stabilizing zein nanoparticle dispersions with ι-carrageenan. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 28-35, 2017.
- CHIANG, K.; KOO, E. H. Emerging therapeutics for Alzheimer's disease. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 54, 2014.
- CHRISTOFORIDIS, J. B.; CHANG, S.; JIANG, A.; WANG, J.; CEBULLA, C. M. Intravitreal devices for the treatment of vitreous inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2012, 2012.
- CLARICE LISPECTOR. II Coletânea de Memórias Cartas a Clarice Lispector. Disponível em: <<https://culturanordestina.com.br/ii-coletanea-de-memorias-cartas-a-clarice-lispector/>> Acesso em: 20 de Janeiro de 2022.
- COLOVIC, M. B.; KRSTIC, D. Z.; LAZAREVIC-PASTI, T. D.; BONDZIC, A. M.; VASIC, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315-335, 2013.
- COMPAGNONI, M.; DI FONZO, A.; CORTI, S.; COMI, G. P.; BRESOLIN, N.; MASLIAH, E. The Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: the Lesson from Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 57, p. 2959–2980, 2020.
- CROUS-BOU, M.; MINGUILLÓN, C.; GRAMUNT, N.; MOLINUEVO, J. L. Alzheimer's disease prevention: from risk factors to early intervention. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 9, n. 1, p. 71, 2017.
- CROWE, T. P.; GREENLEE, M. H. W.; KANTHASAMY, A. G.; HSU, W. H. Mechanism of intranasal drug delivery directly to the brain. **Life sciences**, v. 195, p. 44-52, 2018.
- CRUCHO, C. IC; BARROS, M. T. Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. **Materials Science and Engineering: C**, v. 80, p. 771-784, 2017.

- DAVARAN, S.; ALIMIRZALU, S.; NEJATI-KOSHKI, K.; NASRABADI, H. T.; AKBARZADEH, A.; KHANDAGHI, A. A.; ALIMOHAMMADI, S. Physicochemical characteristics of Fe. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 15, p. 49-54, 2014.
- DE SOUZA, M. L.; DOURADO, D.; LÔBO, I. P.; PIRES, V. C.; DE OLIVEIRA ARAÚJO, S. N.; DE SOUZA REBOUÇAS, J.; FORMIGA, F. R. Wild Passiflora (*Passiflora* spp.) seed oils and their nanoemulsions induce proliferation in HaCaT keratinocytes cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 67, p. 102803, 2022.
- DEL AMO, L.; CANO, A.; ETTCHETO, M.; SOUTO, E. B.; ESPINA, M.; CAMINS, A.; GARCIA, M. L.; SÁNCHEZ-LÓPEZ, E. Surface functionalization of PLGA nanoparticles to increase transport across the BBB for Alzheimer's disease. **Applied Sciences**, v. 11, n. 9, p. 4305, 2021.
- DENG, Y.; JIANG, X.; DENG, X.; CHEN, H.; XU, J.; ZHANG, Z.; LIU, G.; YONG, Z.; YUAN, C.; SUN, X.; WANG, C. Pioglitazone ameliorates neuronal damage after traumatic brain injury via the PPAR γ /NF- κ B/IL-6 signaling pathway. **Genes & Diseases**, v.7, n. 2, p. 253-265, 2020.
- DENG, Y.; ZHANG, X.; SHEN, H.; HE, Q.; WU, Z.; LIAO, W.; YUAN, M. Application of the Nano-Drug Delivery System in Treatment of Cardiovascular Diseases. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, 2020.
- DMOUR, I.; TAHA, M. O. Natural and semisynthetic polymers in pharmaceutical nanotechnology. Organic materials as smart nanocarriers for drug delivery, p. 35-100, 2018.
- DO, P. Q. T.; HUONG, V. T.; PHUONG, N. T. T.; NGUYEN, T-H.; TA, H. K. T.; JUE, H.; PHUNG, V-D.; TRINH, K. T. L.; TRAN, N. H. T. The highly sensitive determination of serotonin by using gold nanoparticles (Au NPs) with a localized surface plasmon resonance (LSPR) absorption wavelength in the visible region. **Royal Society of Chemistry**, v. 10, 30858-30869, 2020.
- DREADEN, E. C.; ALKILANY, A. M.; HUANG, X.; MURPHY, C. J.; EL-SAYED, M. A. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2740-2779, 2012.
- EL-DIN, S. S.; ABD ELWAHAB, S.; RASHED, L.; FAYEZ, S.; ABOULHODA, B. E.; HEIKAL, O. A.; NOUR, Z. A. Possible role of rice bran extract in microglial modulation through PPAR-gamma receptors in alzheimer's disease mice model. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 7, p. 1903-1915, 2021.
- ERDŐ, F.; BORS, L. A.; FARKAS, D.; BAJZA, Á.; GIZURARSON, S. Evaluation of intranasal delivery route of drug administration for brain targeting. **Brain research bulletin**, v. 143, p. 155-170, 2018.
- ESCALONA-RAYO, O.; FUENTES-VÁZQUEZ, P.; JARDON-XICOTENCATL, S.; GARCÍA-TOVAR, C. G.; MENDOZA-ELVIRA, S.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Rapamycin-loaded polysorbate 80-coated PLGA nanoparticles: optimization of formulation variables and in vitro anti-glioma assessment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 52, p. 488-499, 2019.

- EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 3, p. 628-647, 2013.
- FENG, S. T.; LI, J.; LUO, Y.; YIN, T.; CAI, H.; WANG, Y.; LI, Z. P. pH-sensitive nanomicelles for controlled and efficient drug delivery to human colorectal carcinoma LoVo cells. **PloS one**, v. 9, n. 6, p. e100732, 2014.
- FETER, N.; LEITE, J. S.; CAPUTO, E. L.; CARDOSO, R. K.; ROMBALDI, A. L. Who are the people with Alzheimer's disease in Brazil? Findings from the Brazilian Longitudinal Study of Aging. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 24, 2021.
- FEYNMAN, R. P. **There's plenty of room at the bottom**. *Eng. Sci.*, v. 22, p. 22-36. 1960.
- FOLCH, J.; ETTCHETO, M.; PETROV, D.; ABAD, S.; PEDRÓS, I.; MARIN, M.; CAMINS, A. Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: strategies for combating β -amyloid protein. **Neurología (English Edition)**, v. 33, n. 1, p. 47-58, 2018.
- GANESH, M.; HEMALATHA, P.; PENG, M. M.; JANG, H. T. One pot synthesized Li, Zr doped porous silica nanoparticle for low temperature CO₂ adsorption. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S1501-S1505, 2017.
- GAUMET, M.; VARGAS, A.; GURNY, R.; DELIE, F. Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**, v. 69, n. 1, p. 1-9, 2008.
- GHALEI, S.; ASADI, H.; GHALEI, B. Zein nanoparticle-embedded electrospun PVA nanofibers as wound dressing for topical delivery of anti-inflammatory diclofenac. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 33, p. 46643, 2018.
- GHEIDARI, D.; BAYAT, M. Current trends of targeted nanoparticulate carriers for the treatment of Alzheimer's disease. In: **Nanomaterial Drug Delivery for Neurodegenerative Diseases**. Academic Press, p. 17-39, 2022.
- GRAFF, C. L.; POLLACK, G. M. Nasal drug administration: potential for targeted central nervous system delivery. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 94, n. 6, p. 1187-1195, 2005.
- GU, L.; HE, X.; WU, Z. Mesoporous hydroxyapatite: Preparation, drug adsorption, and release properties. **Materials Chemistry and Physics**, v. 148, n. 1-2, p. 153-158, 2014.
- GUPTA, R. A.; KUMAR, P. O. Development and Characterization of Pioglitazone Nanoparticles for the Effective Treatment of Diabetes Mellitus. **Journal of Pharmaceutical Research International**, p. 172-182, 2021.
- GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. **Drug target insights**, v. 2, p. 147-157, 2007.
- HAJLEH, M.N.B.; ABU-HUWAIJ, R.; AL-SAMYDAI, A.; AL-HALASEH, L.K.; AL-DUJAILI, E. A. The revolution of cosmeceuticals delivery by using nanotechnology: a

narrative review of advantages and side effects. **Journal of Cosmetic Dermatology**, p. 1-11, 2021.

HANDA, M.; TIWARI, S.; YADAV, A. K.; ALMALKI, W. H.; ALGHAMDI, S.; ALHARBI, K. S.; SHUKLA, R.; BEG, S. Therapeutic potential of nanoemulsions as feasible wagons for targeting Alzheimer's disease. *Drug Discovery Today*, v. 26, n. 12, p. 2881-2888, 2021.

HATANAKA, J.; CHIKAMORI, H.; SATO, H.; UCHIDA, S.; DEBARI, K.; ONOUE, S.; YAMADA, S. Physicochemical and pharmacological characterization of α -tocopherol-loaded nano-emulsion system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 396, n. 1-2, p. 188-193, 2010.

HAUMANN, R.; VIDEIRA, J. C.; KASPERS, G. J.; VAN VUURDEN, D. G.; HULLEMAN, E. Overview of current drug delivery methods across the blood-brain barrier for the treatment of primary brain tumors. **CNS drugs**, v. 34, n. 11, p. 1121-1131, 2020.

HEEP, G. et al. Zein-casein-lysine multicomposite nanoparticles are effective in modulate the intestinal permeability of ferulic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 138, p. 244-251, 2019.

HOMAYOONFAL, M.; MOUSAVI, S. M.; KIANI, H.; ASKARI, G.; DESOBRY, S.; ARAB-TEHRANY. Encapsulation of Berberis vulgaris Anthocyanins into Nanoliposome Composed of Rapeseed Lecithin: A Comprehensive Study on Physicochemical Characteristics and Biocompatibility. **FOODS**, v. 10, n. 3, p.492, 2021.

HSU, JEN-FU. et al. Nanotechnology and nanocarrier-based drug delivery as the potential therapeutic strategy for glioblastoma multiforme: an update. **Cancers**, v. 13, n. 2, p. 195, 2021.

INCHAURRAGA, L.; MARTIN-ARBELLA, N.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, A.L.; IRACHE, J.M. Zein-based nanoparticles for the oral delivery of insulin. **Drug Deliv. and Transl. Res.** v. 10, p. 1601-1611, 2020.

INCHAURRAGA, L.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, A.L.; ABDULKARIM, M.; GUMBLETON, M.; QUINCOSES, G.; PENUELAS, I.; MARTIN-ARBELLA, N.; IRACHE, J. M.; Modulation of the fate of zein nanoparticles by their coating with a Gantrez® AN-thiamine polymer conjugate. **International Journal of Pharmaceutics: X** v. 1, 2019.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos - DOC CGRE-008, Brasília, 2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 14 de Outubro de 2021.

J JAGAT, M.; K KALYAN, G.; SUBIR, R. Use of pioglitazone in people with type 2 diabetes mellitus with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Boon or bane?. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, v. 14, n. 5, p. 829-831, 2020.

JARUSZEWSKI, K. M.; RAMAKRISHNAN, S.; PODUSLO, J. F.; KANDIMALLA, K. K. Chitosan enhance the stability and targeting of immuno-nanovehicle to cerebro-

vascular deposits of Alzheimer's disease amyloid protein. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, n. 2, p. 250-260, 2012.

JIN, C. L.; GAO, C. Q.; WANG, Q.; ZHANG, Z. M.; XU, Y. L.; LI, H. C.; WANG, X. Q. Effects of pioglitazone hydrochloride and vitamin E on meat quality, antioxidant status and fatty acid profiles in finishing pigs. **Meat Science**, v. 145, p. 340-346, 2018.

JUMMES, B.; SGANZERLA, W. G.; DA ROSA, C. G.; NORONHA, C. M.; NUNES, M. R.; BERTOLDI, F. C.; BARRETO, P. L. M. Antioxidant and antimicrobial poly- ϵ -caprolactone nanoparticles loaded with *Cymbopogon martinii* essential oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, p. 101499, 2020.

KHAN, A. R.; LIU, M.; KHAN, M. W.; ZHAI, G. Progress in brain targeting drug delivery system by nasal route. **Journal of Controlled Release**, v. 268, p. 364-389, 2017.

KHAN, I.; YAMANI, Z. H.; QURASHI, A. Sonochemical-driven ultrafast facile synthesis of SnO₂ nanoparticles: growth mechanism structural electrical and hydrogen gas sensing properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 484-490, 2017.

KHURANA, A. et al. Role of nanotechnology behind the success of mRNA vaccines for COVID-19. **Nano Today**, v. 38, 2021.

KNOPMAN, D.S., AMIEVA, H., PETERSEN, R.C.; CHETELAT, G.; HOLTZMAN, D. M.; HYMAN, B. T.; NIXON, R. A.; JONES, D.T. Alzheimer disease. **Nature reviews dis primers**, v. 7, n. 33, 2021.

KORANI, S.; KORANI, M.; BAHRAMI, S.; JOHNSTON, T. P.; BUTLER, A. E.; BANACH, M.; SAHEBKAR, A. Application of nanotechnology to improve the therapeutic benefits of statins. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 2, 2019.

KOVVASU, S. P. R.; CHOWDARY, K. P. R. Formulation development and in vivo evaluation of pioglitazone inclusion complexes: A factorial study. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, p. 49-55, 2018.

KULENKAMPFF, K.; PEREZ, A-M. W.; SORMANNI, P.; HABCHI, J.; VENDRUSCULO, M. Quantifying misfolded protein oligomers as drug targets and biomarkers in Alzheimer and Parkinson diseases. **Nature reviews Chemistry**, v. 5, p. 277-294, 2021.

KULKARNI, R. V.; PATEL, F. S.; NANJAPPAIAH, H. M.; NAIKAWADI, A. A. In vitro and in vivo evaluation of novel interpenetrated polymer network microparticles containing repaglinide. **International journal of biological macromolecules**, v. 69, p. 514-522, 2014.

LAURENT, S.; FORGE, D.; PORT, M.; ROCH, A.; ROBIC, C.; VANDER ELST, L.; MULLER, R. N. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. **Chemical reviews**, v. 108, n. 6, p. 2064-2110, 2008.

LEE, J. E.; LEE, N.; KIM, T.; KIM, J.; HYEON, T. Multifunctional mesoporous silica nanocomposite nanoparticles for theranostic applications. **Accounts of chemical research**, v. 44, n. 10, p. 893-902, 2011.

LE GUENIC, S.; CHAVERIAT, L.; LEQUART, V.; JOLY, N.; MARTIN, P. Renewable surfactants for biochemical applications and nanotechnology. *Journal of Surfactants and Detergents*, v. 22, n. 1, p. 5-21, 2019.

LENG, F. ; EDISON, P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?. **Nature reviews neurology**, v. 17, p. 157–172, 2021.

LETCHEFORD, K.; BURT, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**, v. 65, n. 3, p. 259-269, 2007.

LI, H.; WANG, D.; LIU, C.; ZHU, J.; FAN, M.; SUN, X.; CAO, Y. Fabrication of stable zein nanoparticles coated with soluble soybean polysaccharide for encapsulation of quercetin. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 342-351, 2019.

LI, M.; ZHAO, G.; SU, W-K.; SHUAI, Q. Enzyme-Responsive Nanoparticles for Anti-tumor Drug Delivery. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, n. 647, 2020.

LI, X.; CHENG, C.; CONG, Y.; DU, C.; ZHAO, H. Preferential solvation of pioglitazone hydrochloride in some binary solvent mixtures according to the inverse Kirkwood–Buff integrals method. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 110, p. 218-226, 2017.

LIMA, V. S.; GUIMARÃES, A. T. B.; DA COSTA ARAÚJO, A. P., ESTRELA, F. N.; DA SILVA, I. C.; DE MELO, N. F. S.; MALAFAIA, G. Depression, anxiety-like behavior, and memory impairment in mice exposed to chitosan-coated zein nanoparticles. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 11, p. 10641-10650, 2019.

LIRA, M.C.B. et al. Cytotoxicity and cellular uptake of newly synthesized fucoidan-coated nanoparticles. *European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceutics*, v.79, p.162- 170, 2011.

LIU, J.; HUANG, Y.; KUMAR, A.; TAN, A.; JIN, S.; MOZHI, A.; LIANG, X. J. pH-sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 4, p. 693-710, 2014.

LIU, Y.; YANG, J.; ZHAO, Z.; LI, J.; ZHANG, R.; YAO, F. Formation and characterization of natural polysaccharide hollow nanocapsules via template layer-by-layer self-assembly. **Journal of colloid and interface science**, v. 379, n. 1, p. 130-140, 2012.

LOKHANDE, A. B.; MISHRA, S.; KULKARNI, R. D.; NAIK, J. B. Preparation and characterization of repaglinide loaded ethylcellulose nanoparticles by solvent diffusion technique using high pressure homogenizer. **Journal of pharmacy research**, v. 7, n. 5, p. 421-426, 2013.

LONG, J. M.; HOLTZMAN, D. M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. *Cell*, v. 179, n. 2, 2019.

LUCIO, David et al. Optimization and evaluation of zein nanoparticles to improve the oral delivery of glibenclamide. In vivo study using *C. elegans*. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**, v. 121, p. 104-112, 2017.

- MANCARELLA, S.; GRECO, V.; BALDASSARRE, F.; VERGARA, D.; MAFFIA, M.; LEPORATTI, S. Polymer-coated magnetic nanoparticles for curcumin delivery to cancer cells. **Macromolecular Bioscience**, v. 15, n. 10, p. 1365-1374, 2015.
- MANICKAVASAGAM, D. WEHRUNG, D.; CHAMSAZ, E. A.; SANDERS, M.; BOUHENNI, R.; CRISH, S. D.; OYEWUMI, M. O. Assessment of alkoxyphenacyl-based polycarbonates as a potential platform for controlled delivery of a model anti-glaucoma drug. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 107, p. 56-66, 2016.
- MANJU, S.; SHARMA, C. P.; SREENIVASAN, K. Targeted coadministration of sparingly soluble paclitaxel and curcumin into cancer cells by surface engineered magnetic nanoparticles. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 39, p. 15708-15717, 2011.
- MANSHA, M.; QURASHI, A.; ULLAH, N.; BAKARE, F. O.; KHAN, I.; YAMANI, Z. H. Synthesis of In₂O₃/grapheneheterostructure and their hydrogen gas sensing properties. **Ceramics International**, v. 42, n. 9, p. 11490-11495, 2016.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ, A. L.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C. J.; ARANAZ, P.; VIZMANOS, J. L. ; IRACHE, J. M.; In vivo testing of mucus-permeating nanoparticles for oral insulin delivery using *Caenorhabditis elegans* as a model under hyperglycemic conditions. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v.11, n. 4, p. 989-1002, 2021.
- MATEW, A.; FUKUDA, T.; NAGAOKA, Y.; HASUMURA, T.; MORIMOTO, H.; YASUHIKO, Y.; MAEKAWA, T.; VENUGOPAL, K.; KUMAR, S. D. Curcumin Loaded-PLGA Nanoparticles Conjugated with Tet-1 Peptide for Potential Use in Alzheimer's Disease. **Plos One**, v. 7, n. 3, 2012.
- MATÍAS, J.; PASTOR, Y.; IRACHE, J. M.; GAMAZO, C. Protective passive immunity in *Escherichia coli* ETEC-challenged neonatal mice conferred by orally immunized dams with nanoparticles containing homologous outer membrane vesicles. **Vaccines**, v. 8, n. 2, p. 286, 2020.
- MCCLEMENTS, D. J.; OZTUK, B. Utilization of Nanotechnology to Improve the Application and Bioavailability of Phytochemicals Derived from Waste Streams. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 70 , n. 23 , p. 6884-6900, 2021.
- MEHTA, P., PAWAR, A., MAHADIK, K., & BOTHIRAJA, C. Emerging novel drug delivery strategies for bioactive flavonol fisetin in biomedicine. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1282-1291, 2018.
- MÉTODO HPLC PARA ANÁLISE DE PIOGLITAZONA. SIELC Technologies, 2020. Disponível em: <<https://sielc.com/pioglitazone.html>>. Acesso em: 03 de janeiro de 2020.
- MIRGANI, M. T.; ISACCHI, B.; SADEGHIZADEH, M.; MARRA, F.; BILIA, A. R.; MOWLA, S. J.; BABAEI, E. Dendrosomalcurcuminnanoformulationdownregulatespluripotency genes via miR-145 activation in U87MG glioblastoma cells. **International journal of nanomedicine**, v. 9, p. 403, 2014.
- MISTRY, A.; STOLNIK, S.; ILLUM, L. Nanoparticles for direct nose-to-brain delivery of drugs. **International journal of pharmaceutics**, v. 379, n. 1, p. 146-157, 2009.

- MORENO, L. C. G. I.; PUERTA, E.; SUÁREZ-SANTIAGO, J. E.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; RAMIREZ, M. J.; IRACHE, J. M. Effect of the oral administration of nanoencapsulated quercetin on a mouse model of Alzheimer's disease. **International journal of pharmaceutics**, v. 517, n. 1-2, p. 50-57, 2017.
- MOSCOSO A.; GROTHE M.J.; ASHTON N. J.; KARIKARI, T. K.; RODRÍGUEZ, J. L.; SNELLMAN, A.; SUÁREZ-CALVET, M.; BLENNOW, K.; ZETTERBERG, H.; SHOLL, M. Longitudinal Associations of Blood Phosphorylated Tau181 and Neurofilament Light Chain With Neurodegeneration in Alzheimer Disease. **JAMA Neurology**, v. 78, n. 4, p. 396-406, 2021.
- MUZIBI, Y. I.; RAMYA, E.; AMBEDKAR, Y. R. Formulation, Optimization and Pharmacodynamic Studies of Pioglitazone HCl Solid Lipid Nanoparticles. **JPRI**, v. 33, n. 46, p. 329-341, 2021.
- NAAHIDI, S.; JAFARI, M.; EDALAT, F.; RAYMOND, K.; KHADEMHOSEINI, A.; CHEN, P. Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery. **Journal of controlled release**, v. 166, n. 2, p. 182-194, 2013.
- NAYAK, B. S.; SAHOO, D.; MISHRA, S. R.; ELLAIAH, P. Pioglitazone microcapsules: formulation and in vitro - ex vivo characterization. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 9, p. 93-107, 2018.
- NOWAK, M.; BROW, T. D.; GRAHAM, A.; HELGESON, M. E.; MITRAGORI, S. Size, shape, and flexibility influence nanoparticle transport across brain endothelium under flow. *Bioengineering & Translational Medicine*, v. 5, n. 2, 2020.
- ORIVE, G.; HERNANDEZ, R. M.; GASCÓN, A. R.; DOMÍNGUEZ-GIL, A.; PEDRAZ, J. L. Drug delivery in biotechnology: present and future. **Current opinion in biotechnology**, v. 14, n. 6, p. 659-664, 2003.
- OWENS III, D. E.; PEPPAS, N. A. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. **International journal of pharmaceutics**, v. 307, n. 1, p. 93-102, 2006.
- PARK, C. E.; PARK, D. J.; KIM, B. K. Effects of a chitosan coating on properties of retinol-encapsulated zein nanoparticles. **Food science and biotechnology**, v. 24, n. 5, p. 1725-1733, 2015. CHENG, C. J.; JONES, O. G. Stabilizing zein nanoparticle dispersions with ι-carrageenan. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 28-35, 2017.
- PARK, K. Drug delivery of the future: Chasing the invisible gorilla. **Journal of Controlled Release**, v. 240, p. 2-8, 2016.
- PARMAR, K.; PATEL, J. K. Surface modification of nanoparticles to oppose uptake by the mononuclear phagocyte system. In: **Surface Modification of Nanoparticles for Targeted Drug Delivery**. Springer, Cham, p. 221-236, 2019.
- PARVEEN, S.; SAHOO, S. K. Nanomedicine. **Clinical pharmacokinetics**, v. 45, n. 10, p. 965-988, 2006.
- PASCOLI, M.; DE LIMA, R.; FRACETO, L. F. Zein nanoparticles and strategies to improve colloidal stability: a mini-review. **Frontiers in chemistry**, v. 6, p. 6, 2018.
- PATHAK, C.; VAIDYA, F. U.; PANDEY, S. M.; Chapter 3 - Mechanism for Development of Nanobased Drug Delivery System, Editor(s): Shyam S. Mohapatra, Shivendu Ranjan, Nandita Dasgupta, Raghvendra Kumar Mishra, Sabu Thomas, In

Micro and Nano Technologies, Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems, **Elsevier**, p. 35-67, 2019.

PATRA, S.; ROY, E.; KARFA, P.; KUMAR, S.; MADHURI, R.; SHARMA, P. K. Dual-responsive polymer coated superparamagnetic nanoparticle for targeted drug delivery and hyperthermia treatment. **ACS applied materials & interfaces**, v. 7, n. 17, p. 9235-9246, 2015.

PAULUK, D.; PADILHA, K. A.; KHALIL, N. M.; MAINARDES, R. M. Chitosan-coated zein nanoparticles for oral delivery of resveratrol: Formation, characterization, stability, mucoadhesive properties and antioxidant activity. *Food Hydrocolloids*, v. 94, p. 411-417, 2019.

PEARCE, A. K.; O'REILLY, R. K. Insights into active targeting of nanoparticles in drug delivery: Advances in clinical studies and design considerations for cancer nanomedicine. **Bioconjugate chemistry**, v. 30, n. 9, p. 2300-2311, 2019.

PENALVA, R.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C. J.; GAMAZO, C.; ESPARZA, I.; IRACHE, J. M. ZEIN nanoparticles for oral delivery of quercetin: Pharmacokinetic studies and preventive anti-inflammatory effects in a mouse model of endotoxemia. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 13, n. 1, p. 103-110, 2017.

PERNECZKY, R.; KEMPERMANN, G.; KORCZYN, A. D.; MATTEWS, F. E.; IKRAN, M. A.; SCARMEAS, N.; CHETELAT, G.; STHERN, Y.; EWERS, M. Translational research on reserve against neurodegenerative disease: consensus report of the International Conference on Cognitive Reserve in the Dementias and the Alzheimer's Association Reserve, Resilience and Protective Factors Professional Interest Area working groups. **BMC Med**, v. 17, n. 47, 2019.

PODARALLA, S.; PERUMAL, O. Influence of formulation factors on the preparation of zein nanoparticles. **Aaps PharmSci Tech**, v. 13, n. 3, p. 919-927, 2012.

POMYTKIN, I.; COSTA-NUNES, J. P.; KASATKIN, V.; VENIAMINOVA, E.; DEMCHENKO, A.; LYUNDUP, A.; STREKALOVA, T. Insulin receptor in the brain: Mechanisms of activation and the role in the CNS pathology and treatment. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 24, n. 9, p. 763-774, 2018.

PUBCHEM. National Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine. Pioglitazone. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pioglitazone>>. Acesso em: 03 de Janeiro de 2022.

PUGAZHENDHI, A.; PRABAKAR, D.; JACOB, J. M.; KARUPPUSAMY, I.; SARATALE, R. G. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Gelidium amansii* and its antimicrobial property against various pathogenic bacteria. **Microbial pathogenesis**, v. 114, p. 41-45, 2018.

RABIEE, N.; AHMADI, S.; AFSHARI, R.; KHALAJI, S.; RABIEE, M.; BAGHERZADEH, M.; FATAHI, Y.; DINARVAND, R.; TAHRIRI, M.; TAYEBI, L.; HAMBLIN, M. R.; WEBSTER, T. J. Polymeric nanoparticles for nasal drug delivery to the brain: relevance to Alzheimer's disease. *Advanced Therapeutics*, v. 4, n. 3, p. 2000076, 2021.

- RAMKUMAR, V. S.; PUGAZHENDHI, A.; GOPALAKRISHNAN, K.; SIVAGURUNATHAN, P.; SARATALE, G. D.; DUNG, T. N. B.; KANNAPIRAN, E. Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. **Biotechnology reports**, v. 14, p. 1-7, 2017.
- RAO, J. P.; GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. **Progress in polymer science**, v. 36, n. 7, p. 887-913, 2011.
- RASHID, M.; KAUR, V.; HALLAN, S. S.; SHARMA, S.; MISHRA, N. Microparticles as controlled drug delivery carrier for the treatment of ulcerative colitis: A brief review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 4, p. 458-472, 2016.
- REBOREDO, C.; GONZÁLEZ-NAVARRO, C.J.; MARTÍNEZ-OHARRIZ, C.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, A.L.; IRACHE, J.M. Preparation and evaluation of PEG-coated zein nanoparticles for oral drug delivery purposes. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 597, 2021.
- REJINOLD, N. S.; MUTHUNARAYANAN, M.; DIVYARANI, V. V.; SREEREKHA, P. R.; CHENNAZHI, K. P.; NAIR, S. V.; JAYAKUMAR, R. Curcumin-loaded biocompatible thermoresponsive polymeric nanoparticles for cancer drug delivery. **Journal of colloid and interface science**, v. 360, n. 1, p. 39-51, 2011.
- ROJEWSKA, A.; KAREWICZ, A.; KARNAS, K.; WOLSKI, K.; ZAJĄC, M.; KAMIŃSKI, K.; NOWAKOWSKA, M. Pioglitazone-loaded nanostructured hybrid material for skin ulcer treatment. **Materials**, v. 13, n. 9, p. 2050, 2020.
- SAKA, R.; CHELLA, N. Nanotechnology for delivery of natural therapeutic substances: a review. *Environmental Chemistry Letters*, v. 19, p. 1097-1106, 2021.
- SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAÜ, A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. **Food hydrocolloids**, v. 43, p. 547-556, 2015.
- SANTANA, I.; FARINHA, F.; FREITAS, S.; RODRIGUES, V.; CARVALHO, Á. The epidemiology of dementia and Alzheimer disease in Portugal: estimations of prevalence and treatment-costs. **Acta medicaportuguesa**, v. 28, n. 2, p. 182-188, 2015.
- SARAIVA, C.; PRAÇA, C.; FERREIRA, R.; SANTOS, T.; FERREIRA, L.; BERNARDINO, L. Nanoparticle-mediated brain drug delivery: overcoming blood-brain barrier to treat neurodegenerative diseases. **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 34-47, 2016.
- SATO, T.; HANYU, H.; HIRAO, K.; KANETAKA, H.; SAKURAI, H.; IWAMOTO, T. EFFICACY of PPAR- γ agonist pioglitazone in mild Alzheimer disease. **Neurobiology of aging**, v. 32, n. 9, p. 1626-1633, 2011.
- SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; DALLA-COSTA, T.; GUTERRES, S. S. Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 56, n. 3, p. 501-505, 2003.

SEEDI, M.; ESLAMIFAR, M.; KHEZRI, K.; DIZAJ, S. M. Applications of nanotechnology in drug delivery to the central nervous system. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 666-675, 2019.

SHAALAN, M.; SALEH, M.; EL-MAHDY, M.; EL-MATBOULI, M. Recent progress in applications of nanoparticles in fish medicine: a review. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 12, n. 3, p. 701-710, 2016.

SHARMA, D.; MAHESHWARI, D.; PHILIP, G.; RANA, R.; BHATIA, S.; SINGH, M.; DANG, S. Formulation and optimization of polymeric nanoparticles for intranasal delivery of lorazepam using Box-Behnken design: in vitro and in vivo evaluation. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

SHAVETA, S.; SINGH, J.; AFZAL, M.; KAUR, R.; IMAM, S. S.; ALRUWAILI, N. K.; ALHARBI, K. S. .; ALOTAIBI, N. H.; ALSHAMMARI, M. S.; KAZMI, I.; YASIR, M.; GOYEL, A.; A. Ameduzzafar, Development of solid lipid nanoparticle as carrier of pioglitazone for amplification of oral efficacy: Formulation design optimization, in-vitro characterization and in-vivo biological evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 57, 2020.

SHIN, W. K.; CHO, J.; KANNAN, A. G.; LEE, Y. S.; KIM, D. W. Cross-linked composite gel polymer electrolyte using mesoporous methacrylate-functionalized SiO₂ nanoparticles for lithium-ion polymer batteries. **Scientificreports**, v. 6, p. 26332, 2016.

SHINDE, P.; AGRAVAL, H.; SRIVASTAV, A. K.; YADAV, U. C. S.; KUMAR, U. Physico-chemical characterization of carvacrol loaded zein nanoparticles for enhanced anticancer activity and investigation of molecular interactions between them by molecular docking. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 588, 2020.

SIKMA, M. A.; HUNAULT, C. C.; HUITEMA, A. D. R.; DE LANGE, D. W.; MAARSEVEEN, E. M. V. Clinical Pharmacokinetics and Impact of Hematocrit on Monitoring and Dosing of Tacrolimus Early After Heart and Lung Transplantation. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 59, p. 403-408, 2020.

SILVA, A. C., GONZÁLEZ-MIRA, E.; LOBO, J. S.; AMARAL, M. H. Current progresses on nanodelivery systems for the treatment of neuropsychiatric diseases: Alzheimer's and Schizophrenia. **Current pharmaceutical design**, v. 19, n. 41, p. 7185-7195, 2013.

SILVA-ABREU, M.; ESPINOZA, L. C.; RODRÍGUEZ-LAGUNAS, M. J.; FÁBREGA, M. J.; ESPINA, M.; GARCÍA, M. L.; CALPENA, A. C. HumanskinpermeationstudieswithPPAR γ agonistto improve its permeabilityandefficacy in inflammatory processes. **Internationaljournalof molecular sciences**, v. 18, n. 12, p. 2548, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA. **Em dia mundial do Alzheimer, dados ainda são subestimados, apesar de avanços no diagnóstico e tratamento da doença**, 2019. Disponível em: <<https://sbgg.org.br/em-dia-mundial-do-alzheimer-dados-ainda-sao-subestimados-apesar-de-avancos-no-diagnostico-e-tratamento-da-doenca/>>. Acessoem 25 de agosto de 2020.

SOOD, S.; JAIN, K.; GOWTHAMARAJAN, K. Intranasal therapeutic strategies for management of Alzheimer's disease. **Journal of drug targeting**, v. 22, n. 4, p. 279-294, 2014.

SUBIR, R. Use of pioglitazone in people with type 2 diabetes mellitus with coronavirus disease 2019 (COVID-19): boon or bane?. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 5, p. 829-831, 2020.

SUN, S.; LI, J.; LI, X.; LAN, B.; ZHOU, S.; MENG, Y.; CHENG, L. Episcleral drug film for better-targeted ocular drug delivery and controlled release using multilayered poly-ε-caprolactone (PCL). **Actabiomaterialia**, v. 37, p. 143-154, 2016.

SUR, S.; RATHORE, A.; DAVE, V.; REDDY, K. R.; CHOUHAN, R. S.; SADHU, V. Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 20, p. 100397, 2019.

SWAIN, R. P.; SUBUDHI, B. B. Effect of semicrystalline copolymers in solid dispersions of pioglitazone hydrochloride: in vitro-in vivo correlation. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 45, n. 5, p. 775-786, 2019.

TALIYAN, R.; KAKOTY, V.; SARATHLAL, K. C.; KHARAVTEKAR, S. S.; KARENNANAVAR, C. R.; CHOUDHARY, Y. K.; SINGHVI, G.; RIADI, Y.; DUBEY, S. K.; KESHARWANI. Nanocarrier mediated drug delivery as an impeccable therapeutic approach against Alzheimer's disease. **Journal of Controlled Release**, v. 343, p. 528-550, 2022.

TEAIMA, M.; HABABEH, S.; KHANFAR, M.; ALANAZI, T.; ALSHORA, D.; EL NABARAWI, M. Design and Optimization of Pioglitazone Hydrochloride Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Incorporated into an Orally Disintegrating Tablet. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 2, p. 425, 2022.

TEIXEIRA, M. I.; LOPES, C. M.; GONÇALVES, H.; CATITA, J.; SILVA, A. M.; RODRIGUES, F.; COSTA, P. C. Formulation, Characterization, and Cytotoxicity Evaluation of Lactoferrin Functionalized Lipid Nanoparticles for Riluzole Delivery to the Brain. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 185, 2022.

TELENAU, D. M.; NEGUT, I.; GRUMEZESCU, V.; GRUMENESCU, A. M.; TELEANU, R. I. Nanomaterials for Drug Delivery to the Central Nervous System. **Nanomaterials**, v. 9, n. 3, p. 371, 2019.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. Rockville: united states pharmacopial convention, ed. 34, p. 4573-4574, 2011.

THIES, W.; BLEILER, L. 2012 Alzheimer's disease facts and figures Alzheimer's Association*. **Alzheimer's & Dementia**, v. 8, n. 2, p. 131-168, 2012.

THIRUVENGADAM, M.; RAJAKUMAR, G.; CHUNG, III-Min. Nanotecnologia: usos atuais e aplicações futuras na indústria alimentícia. **3 Biotech**, v. 8, n. 1, pág. 1-13, 2018.

THOE, E. S.; FAUZI, A.; TANG, Y.Q.; CHAMYUANG, S.; CHIA, A.Y.Y.; A review on advances of treatment modalities for Alzheimer's disease. **Life Sciences**, v. 276, p. 119129, 2021.

TIWARI, G.; TIWARI, R.; SRIWASTAWA, B.; BHATI, L.; PANDEY, S.; PANDEY, P.; BANNERJEE, S. K. Drug delivery systems: An updated review. **International journal of pharmaceutical investigation**, v. 2, n. 1, p. 2, 2012.

TIWARI, J. N.; TIWARI, R. N.; KIM, K. S. Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. **Progress in Materials Science**, v. 57, n. 4, p. 724-803, 2012.

TIWARI, S.; ATLURI, V.; KAUSHIK, A.; YNDART, A.; NAIR, M. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *International Journal of Nanomedicine*, v. 14, p. 5541-5554, 2019.

TUMMINIA, A.; VINCIGUERRA, F.; PARISI, M.; FRITTITTA, L. Type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease: Role of insulin signaling and therapeutic implications. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 11, p. 3306, 2018.

URIMI, D.; WIDENBRING, R.; GARCÍA, R. O. P.; GEDDA, L.; EDWARDS, K.; LOFTSSON, T.; SCHIPPER, N. Formulation development and upscaling of lipid nanocapsules as a drug delivery system for a novel cyclic GMP analogue intended for retinal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 602, 2021,

VAN WOENSEL, M.; WAUTHOZ, N.; ROSIÈRE, R.; AMIGHI, K.; MATHIEU, V.; LEFRANC, F.; DE VLEESCHOUWER, S. Formulations for intranasal delivery of pharmacological agents to combat brain disease: a new opportunity to tackle GBM?. **Cancers**, v. 5, n. 3, p. 1020-1048, 2013.

VARSHOSAZ, J.; AHMADIPOUR, S.; TABBAKHIAN, AHMADIPOUR, S. Nanocrystallization of Pioglitazone by Precipitation Method. **Drug research**, v. 68, n. 10, p. 576-583, 2018.

VASHIST, A.; VASHIST, A.; GUPTA, Y. K.; AHMAD, S. Recent advances in hydrogel based drug delivery systems for the human body. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 2, p. 147-166, 2014.

VENKATASUBBU, G. D.; RAMASAMY, S.; RAMAKRISHNAN, V.; KUMAR, J. Nanocrystalline hydroxyapatite and zinc-doped hydroxyapatite as carrier material for controlled delivery of ciprofloxacin. **3 Biotech**, v. 1, n. 3, p. 173-186, 2011.

VHORA, I.; PATIL, S.; BHATT, P.; MISRA, A. Protein—and peptide—drug Conjugates: an emerging drug delivery technology. In: **Advances in protein chemistry and structural biology**. Academic Press, 2015. p. 1-55.

WAIS, U.; JACKSON, A. W.; HE, T.; ZHANG, H. Nanoformulation and encapsulation approaches for poorly water-soluble drug nanoparticles. **Nanoscale**, v. 8, n. 4, p. 1746-1769, 2016.

WANG, Y. F.; LIU, L.; XUE, X.; LIANG, X. J. Nanoparticle-based drug delivery systems: What can they really do in vivo?. **F1000Research**, v. 6, 2017.

WANG, Z.; XU, Q.; CAI, F.; LIU, X.; WU, Y.; SONG, W. BACE2, a conditional β -secretase, contributes to Alzheimer's disease pathogenesis. **JCI Insight**, v.4, n.1, 2019.

WECHSLER, M. E.; VELA RAMIREZ, J. E.; PEPPAS, N. A. 110th anniversary: Nanoparticle mediated drug delivery for the treatment of Alzheimer's disease:

- Crossing the blood–brain barrier. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 58, n. 33, p. 15079-15087, 2019.
- WEISSMUELLER, N. T.; LU, H. D.; HURLEY, A.; PRUD'HOMME, R. K. Nanocarriers from GRAS zein proteins to encapsulate hydrophobic actives. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 11, p. 3828-3837, 2016.
- WEN, M. M.; EL-SALAMOUNI, N. S.; EL-REFAIE, W. M.; HAZZAH, H. A.; ALI, M. M.; TOSI, G.; HANAFY, A. S. Nanotechnology-based drug delivery systems for Alzheimer's disease management: Technical, industrial, and clinical challenges. **Journal of Controlled Release**, v. 245, p. 95-107, 2017.
- WILLIAMS, R.M.; JAIMES, E.A.; HELLER, D.A. Nanomedicines for kidney diseases. **Kidney International**, v. 90, n. 4, p. 740-745, 2016.
- WOHLFART, S.; GELPERINA, S.; KREUTER, J. Transport of drugs across the blood–brain barrier by nanoparticles. **Journal of controlled release**, v. 161, n. 2, p. 264-273, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hearts: technical package for cardiovascular disease management in primary healthcare. 2020.
- WU, J.; KONG, T.; YEUNG, K. W. K.; SHUM, H. C.; CHEUNG, K. M. C.; WANG, L.; TO, M. K. T. Fabrication and characterization of monodisperse PLGA–alginate core–shell microspheres with monodisperse size and homogeneous shells for controlled drug release. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 7, p. 7410-7419, 2013.
- XU, C., LI, H.; ZHANG, K.; BINZEL, D. W.; YIN, H.; CHIU, W.; GUO, P. Photo-controlled release of paclitaxel and model drugs from RNA pyramids. *Nano research*, v. 12, n. 1, p. 41-48, 2019.
- YAO, K.; CHEN, W.; SONG, F.; MCCLEMENTS, D.J.; HU, K. Tailoring zein nanoparticle functionality using biopolymer coatings: Impact on curcumin bioaccessibility and antioxidant capacity under simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 262-272, 2018.
- YIANNPOULOU, K.G.; ANASTASIOU, A.I.; ZACHARIOU, V.; PELIDOU, S.-H. Reasons for Failed Trials of Disease-Modifying Treatments for Alzheimer Disease and Their Contribution in Recent Research. **Biomedicines**, v. 7, n. 97, 2019.
- YUAN, Y.; MA, M.; XU, Y.; WU, D. Surface coating of zein nanoparticles to improve the application of bioactive compounds: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 120, p. 1-15, 2022.
- ŽALNĖRAVIČIUS, R.; PAŠKEVIČIUS, A.; MAŽEIKA, K.; JAGMINAS, A. Fe (II)-substituted cobalt ferrite nanoparticles against multidrug resistant microorganisms. **Applied Surface Science**, v. 435, p. 141-148, 2018.
- ZHANG, C.; LI, C.; HUANG, S.; HOU, Z.; CHENG, Z.; YANG, P.; LIN, J. Self-activated luminescent and mesoporous strontium hydroxyapatite nanorods for drug delivery. **Biomaterials**, v. 31, n. 12, p. 3374-3383, 2010.
- ZHANG, C.; WAN, X.; ZHENG, X.; SHAO, X.; LIU, Q.; ZHANG, Q.; QIAN, Y. Dual-functional nanoparticle targeting amyloid plaques in the brains of Alzheimer's disease mice. **Biomaterials**, v. 35, n. 1, p. 456-465, 2014.

ZHANG, H.; VAN OS, W. L.; TIAN, X.; ZU, G.; RIBOVSKI, L.; BRON, R.; ZUHORN, I. S. Development of curcumin-loaded zein nanoparticles for transport across the blood–brain barrier and inhibition of glioblastoma cell growth. **Biomaterials Science**, 2021.

ZHANG, P.; XU, S.; ZHU, Z.; JINYI XU. Multi-target design strategies for the improved treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 176, p. 228-247, 2019.

ZHANG, R. X.; LI, J.; ZHANG, T.; AMINI, M. A.; HE, C.; LU, B.; AHMED, T.; LIP, H.; RAUTH, A. M.; WU, X. Y. Importance of integrating nanotechnology with pharmacology and physiology for innovative drug delivery and therapy – an illustration with firsthand examples. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 39, p. 825–844 2018.

ZHANG, W.; MEHTA A.; TONG, Z.; ESSER, L.; VOELCKER, N. H. Development of Polymeric Nanoparticles for Blood–Brain Barrier Transfer-Strategies and Challenges. *Advanced Science*, v. 8, n. 10, 2021.

ZHANG, X.; DONG, C.; HU, Y.; GAO, M.; LUAN, G. Zein structural protein in gluten-free systems: an overview. **Food Science and Human Wellness**, v. 10, n. 3, p. 270-277, 2021.

ZHANG, X.; TONG, T.; CHANG, A.; ANG, T. F. A.; TAO, Q.; AUERBACH, S.; DEVINE, S.; QIU, W. Q.; MEZ, J.; MASSARO, J.; LUNETTA, K. L.; AU, R.; FARRER, L. A. Midlife lipid and glucose levels are associated with Alzheimer's disease. 2022.

ZHOU, Y.; FANG, J.; BEKRIS, L. M.; KIM, Y. H.; PIEPER, A. A.; LEVERENZ, J. B.; CUMMINGS, J.; CHENG, F. AlzGPS: a genome-wide positioning systems platform to catalyze multi-omics for Alzheimer's drug discovery. **Alzheimer's research & Therapy**, v. 13, n. 24, 2021.