

DESENVOLVIMENTO DE GRÂNULOS NANOREVESTIDOS CONTENDO TRANS-RESVERATROL

Lana Flávia Baron¹
Ana Paula Almeida Bastos²
Franciana Volpato Bellaver³
Francisco Noé da Fonseca⁴

RESUMO

O presente estudo objetivou desenvolver e caracterizar grânulos nanorevestidos contendo trans-resveratrol (RSV). Assim, foram preparadas nanocápsulas poliméricas contendo RSV (NC-RSV, 0,5 mg/mL) e nanocápsulas brancas (NCB) pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado. As formulações foram caracterizadas quanto ao diâmetro, potencial zeta, pH e teor. Também foi avaliada a citotoxicidade das NC-RSV pela técnica de MTT em macrófagos (linhagem RAW) nas concentrações de 0,78 – 100 µg/mL por 24, 48 e 72 h. As NCB, o trans-resveratrol livre e o Tween 80 também foram testados para comparação. A seguir, foram preparados grânulos por via úmida utilizando HPMC ou PVP como aglutinantes, os quais foram caracterizados quanto ao teor, propriedades de fluxo e capacidade de compactação. As NC-RSV apresentaram tamanho médio de 188±3 nm, potencial zeta -26,5±0,2 mV, pH 5,4 e teor médio de 0,4904±0,0056 mg/mL. No teste de MTT, as células expostas às NC-RSV apresentaram viabilidade celular superior a 70% nas concentrações de 0,78 a 6,25 µg/mL. Os grânulos aglutinados com HPMC apresentaram um teor de 37,9±4,5% de RSV e todos os pós apresentaram propriedades de fluxo justo e passável. Desta forma, a utilização da nanotecnologia oferece um meio promissor de liberação de fármacos e a incorporação das nanoformulações em grânulos possibilita o delineamento de formas farmacêuticas de uso oral e com melhor estabilidade, embora outros estudos sejam necessários para ajustar os excipientes e obter preparações mais adequadas.

Palavras-chave: trans-resveratrol. Nanotecnologia. Citotoxicidade. Grânulos.

¹Graduada em Farmácia. Universidade do Contestado (UnC). Concórdia. Santa Catarina. Brasil. E-mail: lanafaviabaroon@hotmail.com

²Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP). Pesquisadora de Imunologia da Embrapa Suínos e Aves. Concórdia. Santa Catarina. Brasil. E-mail: ana.bastos@embrapa.br

³Mestre em Produção e Sanidade Animal pelo Instituto Federal Catarinense (IF-Catarinense). Técnica da Embrapa Suínos e Aves. Concórdia. Santa Catarina. Brasil. E-mail: franciana.bellaver@embrapa.br

⁴Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Docente do curso de Farmácia da Universidade do Contestado e Analista em nanotecnologia da Embrapa Suínos e Aves. Concórdia. Santa Catarina. Brasil. E-mail: francisco.fonseca@embrapa.br

DEVELOPMENT OF NANO-COATED GRANULES CONTAINING TRANS-RESVERATROL

ABSTRACT

The present study developed and characterized *trans*-resveratrol (RSV) nano-coated granules. Thus, polymeric nanocapsules containing RSV (NC-RSV, 0.5 mg/mL) and blank nanocapsules (NCB) were prepared by interfacial deposition of preformed polymer. The formulations were characterized for diameter, zeta potential, pH and drug content. The cytotoxicity of NC-RSV was assessed by the MTT technique in macrophages (RAW strain) at concentrations of 0.78 – 100 µg/mL for 24, 48 and 72 h. NCB, free RSV and Tween 80 were also tested for comparison. Next, wet granules were prepared using HPMC or PVP as binder, which were characterized for drug content, flow properties and compaction capacity. The NC-RSV had an average size of 188±3 nm, zeta potential -26.5±0.2 mV, pH 5.4 and a mean drug content of 0.4904±0.0056 mg/mL. In the MTT test, cells exposed to NC-RSV presented cell viability greater than 70% at concentrations of 0.78 to 6.25 µg/mL. The HPMC agglutinated granules showed a yield of 37.9±4.5% for RSV and all powders showed fair and passable flow properties. In this way, the use of nanotechnology offers a promising drug delivery system and the incorporation of the nanoformulations into granules allows the design of pharmaceutical forms with better stability, although other studies are necessary to adjust the excipients to obtain more adequate preparations.

Keywords: *trans*-resveratrol. Nanotechnology. Cytotoxicity. Granules.

INTRODUÇÃO

Os radicais livres interagem com estruturas celulares e as oxidam. Níveis altos de oxidação modificam a função celular e prejudicam a homeostase, consequentemente, levando ao aumento dos níveis de peroxidação de lipídeos de membrana e até causando danos ao DNA.¹

Nestes casos, além da produção endógena de antioxidantes, a ingestão através da dieta é necessária para evitar maiores problemas. Os compostos fenólicos são importantes antioxidantes, entre eles está o *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4-trihidroxiestilbeno, RSV), uma fitoalexina trifenólica presente em uma variedade de espécies de plantas, tais como videiras, morangos e amendoins.²

Mesmo com sua biodisponibilidade baixa e remoção rápida da circulação, estão descritas evidências de que o RSV evita a carcinogênese, doenças cardíacas, diabetes, infecções e inflamações³. No entanto, apresenta uma elevada fotossensibilidade, ou seja, quando exposto a luz UV sofre isomerização para a forma *cis*, produto biologicamente menos ativo. Essa instabilidade deixa o composto menos bioativo e diminui também a sua biodisponibilidade para o uso clínico.⁴

Desta forma, para aprimorar sua terapia, é importante estudar novos mecanismos que possibilitem mais estabilidade, que levem ao aumento da biodisponibilidade e conservação do RSV, no entanto, sem causar dano celular. Neste contexto, a utilização de nanopartículas poliméricas, além de ser um sistema de liberação modificada, é também uma estratégia promissora para melhorar a estabilidade e a utilização do RSV.

Essas partículas são produzidas através de polímeros sintéticos e conferem maior proteção ao princípio ativo (ex. gastrorresistência), oferecem um meio promissor de liberação de fármacos com eficácia aumentada, toxicidade reduzida, bioatividade prolongada, taxas de liberação controladas, aumento da adesão do paciente devido a diminuição na frequência de administração e a capacidade de *delivery* de múltiplos fármacos com efeitos sinérgicos no mesmo local. Ainda, menor quantidade do princípio ativo é necessária para causar o efeito terapêutico desejado, diminuindo, assim, efeitos adversos e possível toxicidade.^{5,6}

Por outro lado, a instabilidade de suspensões aquosas de nanopartículas em longo prazo é um obstáculo para a aplicabilidade industrial. Logo, a busca pelo desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas a partir de nanopartículas é um ponto estratégico para aumentar sua estabilidade e facilitar a incorporação em cápsulas e comprimidos. Sendo assim, o presente trabalho objetivou desenvolver e caracterizar grânulos nanorevestidos contendo RSV.

MATERIAIS E MÉTODOS

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS CONTENDO RESVERATROL

Foram preparadas nanocápsulas contendo *trans*-resveratrol (NC-RSV 0,5 mg/mL) pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado.⁷ Foram utilizados 94 mg de Eudragit® S100 (Evonik), 72 mg de monooleato de sorbitano (Span 80, Medquímica) e 300 mg de triglicerídios de cadeia média (Fragon) em 26 mL de acetona (Neon), os quais compuseram a fase orgânica. A fase aquosa era composta por água e polissorbatato 80 (Tween 80, Neon). Após a injeção da fase orgânica na fase aquosa, o sistema foi concentrado (remoção da acetona) sob pressão reduzida até um volume final de 50 mL utilizando um evaporador rotatório (Fisatom). Ainda, foram preparadas nanocápsulas brancas (NCB) da mesma maneira, excluindo-se apenas o RSV.

O potencial zeta e o diâmetro das nanocápsulas foram determinados por espalhamento de luz dinâmico utilizando o equipamento Zetasizer®. O pH foi determinado por potenciometria utilizando um pHmetro previamente calibrado (Hanna instruments HI 2221).

O teor de RSV nas formulações foi analisado por espectrofotometria.⁸ A partir de uma solução mãe de RSV (0,5mg/mL) em acetonitrila, foi construída uma curva de calibração contendo 5 pontos (2,5, 5, 10, 15 e 20 µg/mL) e as leituras das absorvâncias foram realizadas com comprimento de onda de 305 nm. Para o doseamento das formulações, foram diluídos 200 µL de formulação em acetonitrila utilizando balão de 10 mL e, a seguir, fez-se a leitura da absorvância no espectrofotômetro (Cary 50 Probe). O teor das formulações foi calculado a partir da equação da reta previamente obtida. Além disso, a recuperação de RSV nas formulações foi realizada, adicionando-se concentrações conhecidas de solução-padrão nas formulações; estas foram, então, quantificadas conforme descrito anteriormente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DAS NANOCÁPSULAS DE *TRANS*-RESVERATROL

Para os testes de citotoxicidade foram cultivados macrófagos de linhagem Raw, *Murinae*, passagem 9. As células foram cultivadas em monocamadas e mantidas em meio DMEM High (INLAB Diagnóstica) suplementado com 10% de SFB (soro bovino fetal, Gibco) e mantidas em estufa úmida (37 °C, 5% CO₂). Quando a confluência atingiu em torno de 90%, as células foram removidas do frasco de cultura por raspagem e transferidas a uma placa de 96 poços contendo 1×10⁵ células viáveis/poço, a qual foi mantida por aproximadamente 24 h na estufa.⁹

As NC-RSV foram diluídas em meio RPMI (Gibco) na faixa de concentração de 0,78 – 100 µg/mL. A distribuição dos tratamentos na placa contemplava poços com ensaios em branco, contendo apenas meio RPMI 1640, poços controles, contendo células e meio RPMI 1640, poços sem células com cada concentração da formulação de nanopartículas (controle da reação) e poços contendo células com cada concentração da formulação de nanopartículas (amostras teste). O mesmo foi feito

$$\text{Viabilidade celular: } \frac{A - B}{C} \times 100$$

com as NCB, com o *trans*-resveratrol livre (RSV livre) e com o tween 80. As placas foram colocadas na estufa com 5% de CO₂, a 37°C, e mantidas por 24, 48 e 72 h.⁹

Na sequência, as placas contendo as células foram avaliadas quanto à viabilidade celular pelo teste do MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide). Neste método, as células que são viáveis irão reduzir o MTT (amarelo) e formar o formazan (roxo). Primeiramente, foi adicionada a solução de MTT (5 mg/mL) em todos os poços. A placa foi incubada por 4 horas em estufa úmida a 37°C com 5% de CO₂. Na sequência, o meio foi removido e as placas foram submetidas à agitação com 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO, MP Biomedicals). A leitura foi realizada em espectrofotômetro de placa (Thermo Fischer) no comprimento de onda de 620 nm. Por fim, a citotoxicidade foi calculada conforme a equação a seguir:

A: absorvância da amostra; B: absorvância do branco; C: absorvância do controle.⁹

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DO GRANULADO NANOREVESTIDO CONTENDO *TRANS*-RESVERATROL POR VIA ÚMIDA

Os grânulos foram obtidos usando o método de granulação por via úmida, empregando celulose microcristalina (94,5%), esterato de magnésio (0,5%) e amido pré-gelatinizado (5%), como diluente, deslizante e desintegrante, respectivamente¹⁰

Os excipientes foram misturados manualmente durante 10 minutos e depois adicionados à suspensão de nanocápsulas, preparadas anteriormente. Foram preparados grânulos hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) ou polivinilporrolidona (PVP) K30 como agente aglutinante. Ainda, foram preparados grânulos brancos de cada aglutinante. A massa de granulado foi calibrado utilizando tamis de mesh 14 (1,40mm) e secado a 37 °C durante 24 h. Por fim, os grânulos foram tamisados em mesh16 (1,18 mm).¹⁰

Foram avaliadas as propriedades de fluxo calculando o índice de Carr e proporção de Hausner.¹¹ O teor de RSV nos grânulos foi determinado através da equação da reta obtida, segundo a metodologia descrita anteriormente. Ainda, foi avaliada a capacidade de compactação do granulado utilizando um texturômetro (TA.XT plusTexture Analyser) com aparato “Powder compaction low tolerancerig”.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (ANOVA, seguido de teste de Tukey). As análises foram realizadas utilizando o *software* Prism 5.0 (GraphPad, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOCÁPSULAS

As características das nanocápsulas contendo *trans*-resveratrol (NC-RSV) estão descritas na Tabela 1, onde apresentaram tamanho médio de 188 ± 3 nm e potencial zeta de -26.5 ± 0.2 mV, atingindo assim o valor adequado para uma boa

estabilização estática. Ahuja et. al. (2011) desenvolveram nanopartículas de diclofenaco preparadas por nanoprecipitação também utilizando Eudragit® S100. O diâmetro encontrado foi de 172 nm e o potencial zeta foi de $-23,7 \pm 6,07$ mV, esses resultados corroboram os resultados encontrados para a formulação desenvolvida no presente estudo. Como esperado, por ter sido utilizado um polímero aniônico, o pH encontrado foi levemente ácido tanto para as NCB quanto NC-RSV (5,5 e 5,4, respectivamente). Por outro lado, Schaffazick et. al. (2006) encontraram pH de 3,97 para formulações produzidas com o mesmo polímero. Essa variação pode estar relacionada com variações dos aparelhos utilizados para medição do pH. Ainda, a curva de calibração apresentou linearidade na faixa avaliada ($r > 0,999$) e o valor obtido próximo do esperado. A recuperação de RSV variou de 101,8 – 102,5%.

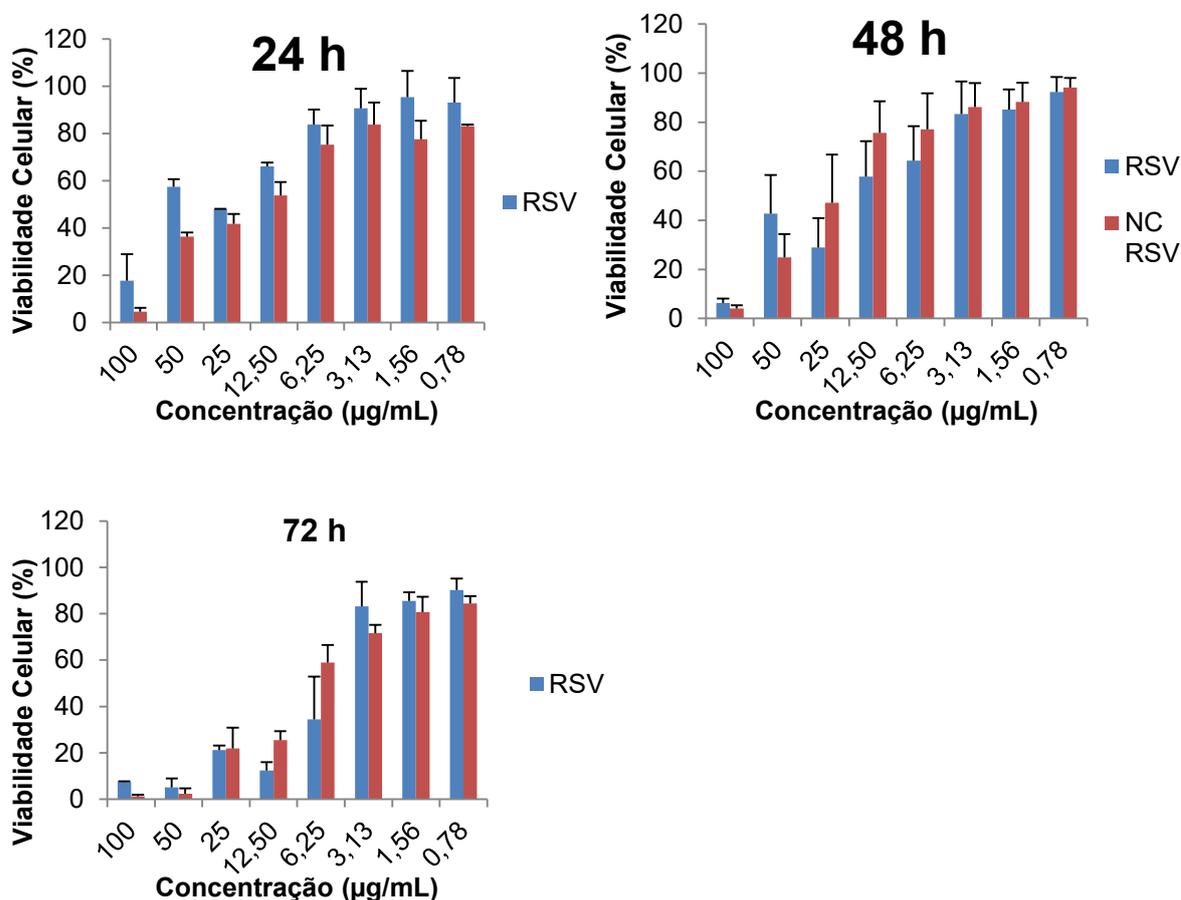
Tabela 1 – Caracterização das NC-RSV e NCB

Formulação	Diâmetro (nm)	Potencial Zeta (mV)	Teor (mg/mL)	pH
NCB	188±2	-30,7±0,5	-	5,5
NC-RSV	188±3	-26,5±0,2	0,4904 ± 0,0056	5,4

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DAS NANOCÁPSULAS

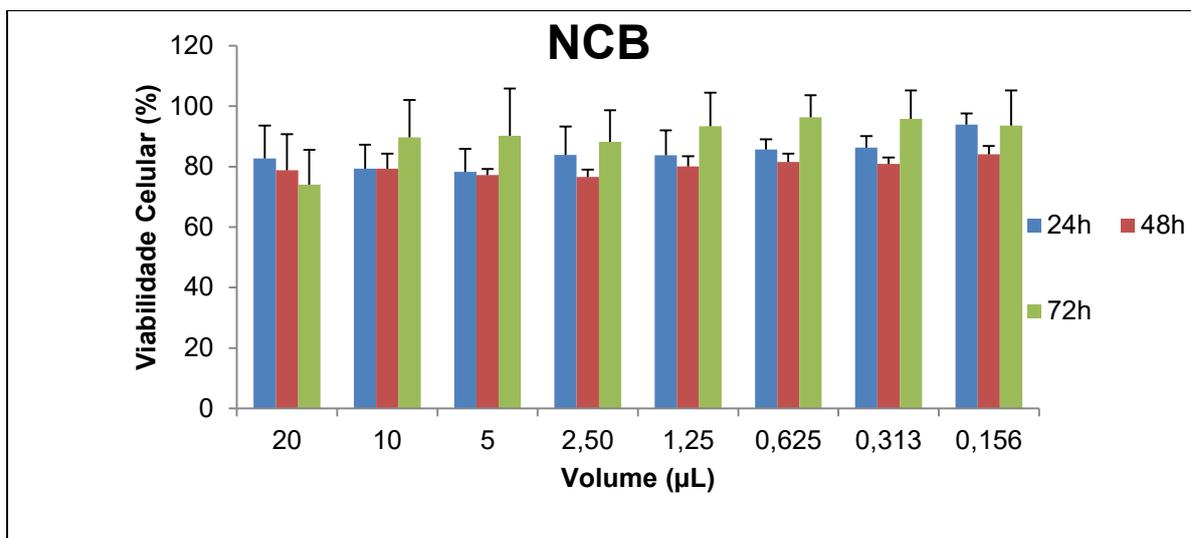
Conforme apresentado no Gráfico 1, as NC-RSV apresentaram nas concentrações de 0,78 a 6,25 µg/mL viabilidade superior a 70% em todos os tempos testados, indicando a baixa toxicidade da formulação de acordo com a ISO 10993-5:2009, com exceção de 72 h, cuja viabilidade em 6,25 µg/mL foi $58 \pm 7,67\%$. Por outro lado, os testes com o RSV livre resultaram em baixa viabilidade celular nas concentrações de 6,25 a 100 µg/mL, com perfil dose dependente e com incremento na redução em função do tempo de exposição. Não foram encontradas diferenças significativas na comparação dos resultados de cada concentração em cada tempo, entre as NC RSV e o RSV livre, exceto para NC RSV em 24 h, na concentração de 50 µg/mL.

Gráfico 1 – Viabilidade celular de macrófagos murinos (linhagem RAW) após tratamento com *trans*-resveratrol livre (RSV) e nanocápsulas poliméricas contendo *trans*-resveratrol (NC RSV). Os valores representam média \pm DP (n=3). * NC RSV 50 vs. RSV livre 50 em 24 h, p<0,05 (ANOVA seguido de Tukey).



No sentido de descartar a possibilidade de interferência do nanocarreador (em virtude da nanoestruturação dos componentes utilizados para preparar a nanoformulação), testou-se a citotoxicidade das NCB nos mesmos volumes utilizados no experimento anterior. Os dados estão apresentados no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Viabilidade celular de macrófagos murinos (Linhagem RAW) após tratamento com nanocápsulas poliméricas brancas (NCB). Os valores representam média \pm DP (n=3).



As NCB desenvolvidas apresentaram viabilidade celular superior a 75% nos três tempos de exposição, mostrando que os componentes da formulação não interferiram nos resultados de viabilidade celular das NC-RSV.

Adicionalmente, já que para solubilizar o RSV fez-se o uso de Tween 80, realizou-se um teste (dados não mostrados) utilizando o surfactante na faixa de concentração de 0,0016 – 0,2%. Foi observado que em concentrações abaixo de 0,1% o Tween 80 apresentou viabilidade celular aceitável nos três tempos, corroborando com a literatura.¹⁴

Neste sentido, nota-se que a nanoformulação desenvolvida apresentou certa citotoxicidade em concentrações mais elevadas, no entanto, decorrente do próprio RSV que possui dose de exposição limite, sendo comprovado nos testes com o RSV livre.

Segundo Radkar e colaboradores (2007), o RSV é tóxico para cultura de macrófagos, células T e células da pele em concentrações $\geq 25 \mu\text{mol/L}$ (equivalente a $5,7 \mu\text{g/mL}$) em 24 h, e essa citotoxicidade ocorre através de um mecanismo que não envolve estresse oxidativo. Ainda, Moreno (2009) testou a citotoxicidade do RSV em linhagem de NCTC clone 929 e Sgambato et al. (2001) testou em células epiteliais mamárias de ratos HC11, e ambos encontraram índice de citotoxicidade 50% (IC_{50}) do RSV de 20-100 μM , equivalente de 4,56-22,82 $\mu\text{g/mL}$. Esses resultados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho em macrófagos de linhagem RAW.

Na comparação entre o RSV livre e as NC-RSV, nota-se que a presença de uma camada polimérica possibilitou maior proteção às células, pois ocorreu diminuição do dano celular no decorrer do tempo. Ribas (2013) também comparou o cetoprofeno livre com o nanoencapsulado, utilizando Eudragit® S100 em fibroblastos de linhagem 3T3 e observou que a viabilidade celular foi superior para as formulações de nanocápsulas no tempo de 24 h.

Já foram preparadas NC-RSV pela técnica da precipitação do polímero pré-formado, utilizando o Eudragit® S100 como polímero e o óleo essencial da planta *Piper dilatatum Rich*, como núcleo lipídico. O perfil citotóxico foi determinado e foi verificada baixa viabilidade celular frente às células de pulmão humano MRC-5 em virtude do caráter citotóxico formado pelo polissorbato 80, excipiente da formulação.¹⁹

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO GRANULADO

O teor de RSV dos grânulos aglutinados com PVP não foi possível ser quantificado e os grânulos aglutinados com HPMC apresentaram um teor muito baixo, com rendimento de apenas 37,9%, isso possivelmente é decorrente do fato dos grânulos não serem solúveis em acetonitrila, o que afetou a extração do RSV da matriz desenvolvida. Vale destacar que há relatos na literatura de incompatibilidade entre fármacos e agentes aglutinantes. Stulzer e Silva (2006) prepararam grânulos de captopril com PVP e observaram acentuada queda do teor de princípio ativo, o que não ocorreu a formulações de captopril revestidas com outros agentes. Comportamento semelhante foi relatado por Botha e Lotter (1990), os quais verificaram interação e incompatibilidade em misturas de PVP com naproxeno.

Valores mais baixos de índice de Carr ou proporção de Hausner indicam melhores propriedades de fluxo. Os grânulos desenvolvidos apresentaram propriedades de fluxo justo e passável segundo a USP (2007) (Tabela 2). Esses resultados corroboram com os encontrados por Friedrich et. al. (2010), que também desenvolveram grânulos utilizando a mesma metodologia e excipientes. Esse autor recomenda, para melhorar as propriedades de fluxo, adicionar deslizantes em baixas concentrações, como dióxido de silício coloidal ou talco.

Tabela 2 – Densidades e propriedades de fluxo do granulado.

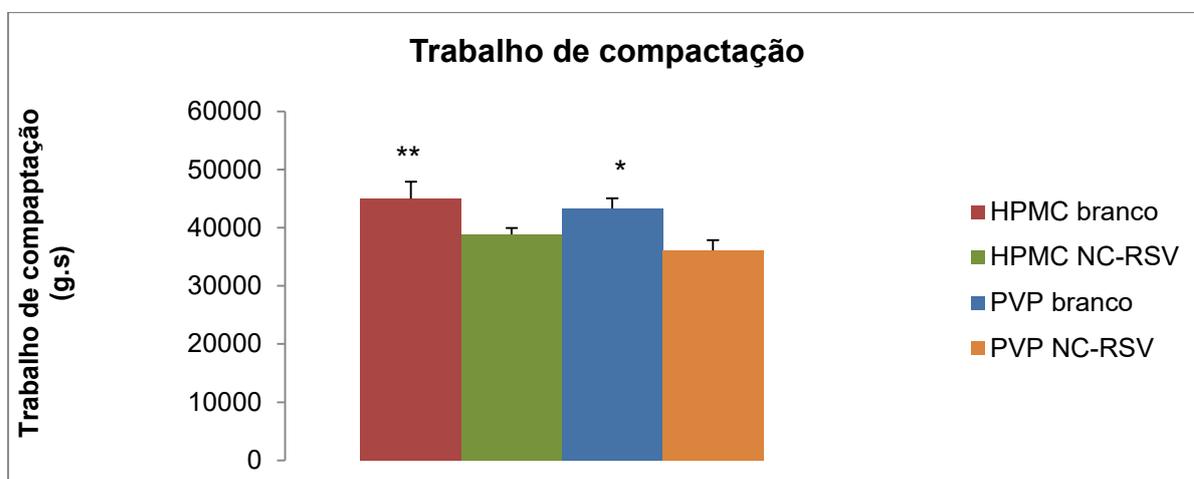
Agente aglutinante	Grânulos	Índice de Carr (%)	Proporção de Hausner
HPMC	NCB	22,31	1,2873
	NC-RSV	22,13	1,2842
	Branco	16,56	1,1984
PVP	NCB	18,86	1,2324
	NC-RSV	23,71	1,3108
	Branco	21,80	1,2788

Não ocorreram diferenças significativas entre o granulado utilizando como aglutinante o HPMC com NC-RSV do granulado utilizando PVP com NC-RSV, mas há

certa tendência de usar menos força e, conseqüentemente, menos trabalho de compactação no granulado utilizando o PVP.

O trabalho de compactação é influenciado pela força e pela distância (Gráfico 3). Ocorreram diferenças significativas do trabalho necessário para compactação entre os grânulos produzidos com PVP, o granulado branco e o que contém as NC-RSV ($p < 0,05$). O fato dos grânulos contendo as NC-RSV utilizarem menor trabalho para a compactação é útil para o escalonamento, pois se torna um processo mais fácil e rápido para a indústria.

Gráfico 3 – Trabalho de compactação dos grânulos. Os valores representam média \pm dp ($n=3$). *PVP branco vs. PVP NC-RSV $p < 0,05$. **HPMC branco vs. PVP NC-RSV $p < 0,05$ (ANOVA seguido de Tukey).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da nanotecnologia oferece um meio promissor de liberação de fármacos com eficácia aumentada, bioatividade prolongada e taxas de liberação controladas. Neste sentido, foram desenvolvidas NC-RSV, as quais foram avaliadas quanto a segurança *in vitro* e também quanto a viabilidade de obtenção de formas farmacêuticas sólidas (granulado).

As NC-RSV não apresentaram citotoxicidade nas concentrações de 0,78 a 6,25 $\mu\text{g/mL}$; no entanto, a redução da viabilidade celular nas maiores doses parece estar relacionada ao RSV em si, já que a NCB não se mostrou citotóxica. Além disso, a viabilidade da incorporação da nanoformulação em grânulos possibilita o delineamento de formas farmacêuticas de uso oral e com melhor estabilidade, embora outros estudos farmacotécnicos sejam necessários para ajustar os excipientes para obter grânulos mais adequados. Ainda, vale ressaltar que testes adicionais são necessários para confirmar a segurança plena desse composto nanotecnológico e a sua aplicação na terapêutica humana.

REFERÊNCIAS

1. ZOPPI, C. C. et al. Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, 2003; 17(2):119-130.
2. LUCAS-ABELLAN, C. et al. Cyclodextrins as resveratrol carrier system. **Food Chemistry**, 2007; 104:39-44.
3. BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the *in vivo* evidence. **Nature Reviews Drug Discovery**, 2006; 5:493-506.
4. AMRI, A. et al. Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations. **Journal Control Release**, 2012; 158:182-193.
5. JABIR, N. R. et al. Nanotechnology-based approaches in anticancer research. **International Journal of Nanomedicine**, [s.l.], 2012 ago; 4391-4408.
6. SEVERINO, P. et al. Polímeros Sintéticos Biodegradáveis: Matérias-primas e Métodos de Produção de Micropartículas para uso em Drug Delivery e Liberação Controlada. **Polímeros**, São Paulo, 2011; 21(4):286-292.
7. SCHAFFAZICK, S. R. et al. Development of Nanocapsule Suspensions and Nanocapsule Spray-Dried Powders Containing Melatonin. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, Porto Alegre, 2006; 17(3):562-569.
8. DETONI, C. B. et al. Photostability and skin penetration of different e-resveratrol-loaded supramolecular structures. **Photochemistry and Photobiology**, [s.l.], 2012; 88(4):913-921.
9. COSTA, Â. D. A. da. **Avaliação da citotoxicidade de diferentes nanotransportadores sem substância ativa em função da sua densidade populacional**. Bragança. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia Biomédica, Escola Superior de Tecnologia e Gestão Instituto Politécnico de Bragança, 2013.
10. FRIEDRICH, R. B. et al. Drying Polymeric Drug-Loaded Nanocapsules: The Wet Granulation Process as a Promising Approach. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, [s.l.], 2010; 10(1):616-621.
11. **USP**, United State Pharmacopeia, USP 30, NF 25, 2007.
12. AHUJA, M. et al. Diclofenac-loaded Eudragit S100 nanosuspension for ophthalmic delivery. **Journal of Microencapsulation**, 2011; 28(1):37-45.
13. ISO 10993-5:2009 Biological Evaluation of Medical Devices. Part 5: Tests for in Vitro Cytotoxicity, 2009.

14. HOW, C. W.; RASEDEE, A.; ABBASALIPOURKABIR, R. Characterization and cytotoxicity of nanostructured lipid carriers formulated with olive oil, hydrogenated palm oil, and polysorbate 80. **IEEE Transactions On Nanobioscience**, Selangor (Malásia), 2013; 12(2):72-78.
15. RADKAR, V. et al. Evaluation of Resveratrol and Piceatannol Cytotoxicity in Macrophages, T Cells, and Skin Cells. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, 2007; 58(3):293-304.
16. MORENO, C. S. **Estudo do efeito radioprotetor do resveratrol**. São Paulo. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências na área de Tecnologia Nuclear - Aplicações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), 2009.
17. SGAMBATO, A. et al. Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage. **Mutation Research**, Roma, 2001; 496:171-180.
18. RIBAS, D. A. **Desenvolvimento de nanocápsulas contendo cetoprofeno e avaliação in vitro da citotoxicidade**. Santa Maria. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, UFSM, 2013.
19. MARTELLET, M. C. **Desenvolvimento, caracterização e atividade antioxidante de nanocápsulas de resveratrol com óleo essencial de piperdilatumrich como núcleo lipídico**. Santa Maria. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nanociências, Centro Universitário Franciscano, 2017.
20. STULZER, H. K.; SILVA, M. A. S. Estudo de Estabilidade de Grânulos revestidos e Comprimidos contendo Captopril. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Florianópolis, 2006; 25(4):497-504.
21. BOTHA, S. A.; LOTTER, A. P. Compatibility study between naproxen and tablet excipients using differential scanning calorimetry. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 1990; 16(4):673-683.

Artigo recebido em: 25/01/2019

Artigo aprovado em: 24/05/2019

Artigo publicado em: 18/06/2019