



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

IRISVAN DA SILVA RIBEIRO

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DE GOMA DO CAJUEIRO
ENXERTADA COM A POLICAPROLACTONA PARA ENCAPSULAMENTO DO
FÁRMACO EPIRRUBICINA

FORTALEZA

2019

IRISVAN DA SILVA RIBEIRO

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DE GOMA DO CAJUEIRO
ENXERTADA COM A POLICAPROLACTONA PARA ENCAPSULAMENTO DO
FÁRMACO EPIRRUBICINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Orientadora: Prof^a. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula
Coorientador: Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R369n Ribeiro, Irisvan da Silva.

Nanopartículas auto-organizadas de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona para encapsulamento do fármaco epirrubicina / Irisvan da Silva Ribeiro. – 2019.
87 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula.

Coorientação: Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula.

1. Câncer. 2. Sistemas de Liberação de Fármacos. 3. Copolímero Anfífilico. 4. Anacardium occidentale. 5. Caprolactona. I. Título.

CDD 540

IRISVAN DA SILVA RIBEIRO

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DE GOMA DO CAJUEIRO
ENXERTADA COM A POLICAPROLACTONA PARA ENCAPSULAMENTO DO
FÁRMACO EPIRRUBICINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial á obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula (Orientadora)
Universidade Federal do Ceara (UFC)

Prof^a. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa
Universidade Federal do Ceara (UFC)

Prof. Dr. Guilherme Augusto Magalhães Júnior
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Aos meus queridos pais, Francisco e Maria, pelo apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Francisco Antônio Alves Ribeiro e Maria Aprigio da Silva, por todo esforço, carinho, dedicação, amor e incentivo, que mesmo à distância sempre estiveram tão presentes.

As minhas irmãs Keylha Silva, Jakline Aprigio e Irisneide Ribeiro que sempre acreditaram nos meus sonhos e me apoiaram nessa caminhada.

A Macileide Almeida, minha princesa, grande amiga e companheira, por sempre estar ao meu lado, por todo o seu amor, apoio e incentivo todos os dias, por sempre ouvir meus lamentos e me dá valiosos conselhos.

Ao meu grande amigo e irmão Carlos Rhamon pelos conselhos e ajuda em todos os momentos.

A minha orientadora Prof^ª. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula, pela oportunidade e por sempre estar disposta a ajudar.

Ao Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula pela coorientação e contribuição para o trabalho.

Às professoras do Laboratório de Polímeros Judith Feitosa, Jeanny Maciel e Pablyana da Cunha por todo o suporte e disponibilidade.

A todo o grupo de pesquisa do Laboratório de Polímeros (LabPol) por ter me recebido de braços abertos, pelo companheirismo, pelos momentos de descontração e por todo o apoio nos momentos de felicidade e de tristeza. Vocês são minha segunda família! Muito obrigado.

Aos alunos de iniciação científica Thiago Rodrigues e Joan Pontes pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

A Maria Magalhães por todos os ensinamentos e ajuda durante a realização do trabalho.

A Raelle Gomes pelo apoio, incentivo e ajuda com a elaboração do trabalho.

A Rayane Rodrigues pela ajuda na confecção da apresentação do trabalho.

Ao Luis Felipe pela correção do Abstract.

À Nádia Aline pelas análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier.

A todos os meus amigos que ajudaram de forma direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

Ao Laboratório CENAUREM pelas análises de Ressonância Magnética Nuclear.

Aos operadores do CENAUREM Venícios Sombra, Laís Ramos e Everton Lucas pela aquisição dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), em especial ao Programa de Pós-graduação em Química por todo o suporte.

A todo o corpo docente da Química pela dedicação e esforço para ensinar os alunos.

Aos órgãos CNPq, FUNCAP e INOMAT pelo auxílio financeiro ao projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Lute pelo seu sonho e não se envergonhe
de chorar quando conseguir ”

(Autor desconhecido)

RESUMO

Copolímeros à base de polissacarídeos têm sido foco de diversas pesquisas para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, por oferecerem um aumento da solubilidade, biodisponibilidade e permeabilidade celular de fármacos. A goma do cajueiro é um polissacarídeo natural constituído de galactose, glucose, arabinose, ramnose e ácido glucurônico, que tem ganho destaque no desenvolvimento de nanopartículas para aplicações farmacêuticas. A policaprolactona é um poliéster não tóxico e biodegradável aprovado pela *Food and Drug Administration* para ser utilizado como biomaterial em aplicações biomédicas. Diante disso, o presente trabalho propôs a preparação de nanopartículas a partir de um copolímero anfifílico obtido com a enxertia da policaprolactona na estrutura da goma do cajueiro. Foi realizada a síntese de três copolímeros com diferentes percentuais em massa de policaprolactona, que foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear. Os copolímeros apresentaram capacidade de auto-organização em água com concentração de associação crítica variando de 42 a 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As nanopartículas foram caracterizadas por espalhamento dinâmico de luz e microscopia eletrônica de varredura. O diâmetro das nanopartículas apresentou uma tendência decrescente com o aumento do percentual de enxerto da policaprolactona (226 - 202 nm). A epirrubicina foi utilizada como modelo de fármaco e incorporada às nanopartículas. O diâmetro das nanopartículas com epirrubicina aumentou em relação ao diâmetro das nanopartículas sem o fármaco (299 - 267 nm). Todos os sistemas apresentaram distribuição de tamanho unimodal, potencial zeta acima de 30 mV em módulo e estrutura esférica. A estabilidade das nanopartículas foi estudada em água a 4 °C e em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C. Para as nanopartículas sem o fármaco foi observado um comportamento não muito comum para sistemas coloidais, que é o decréscimo do diâmetro médio durante o estudo de estabilidade em água, chamado de amadurecimento *anti-Ostwald*. Todos os sistemas com o fármaco apresentaram boa estabilidade em pH fisiológico e durante o período de armazenamento em água a 4 °C. A eficiência de encapsulamento da epirrubicina nas nanopartículas variou de 50 a 60% (m/m) e a carga de fármaco variou de 5,0 a 6,0% (m/m).

Palavras-chave: Câncer. Sistemas de Liberação de Fármacos Copolímero Anfifílico. *Anacardium occidentale*. Caprolactona.

ABSTRACT

Copolymers based polysaccharides have been the focus of several research for the development of drug delivery systems, as they offer increase of solubility, bioavailability and cellular permeability of drugs. Cashew gum is a natural polysaccharide composed of galactose, glucose, arabinose, rhamnose and glucuronic acid that have gained prominence in the development of nanoparticles for pharmaceutical applications. Polycaprolactone is a non-toxic polyester, biodegradable and it is approved by the Food and Drug Administration for use as biomaterial in biomedical applications. Therefore, the present work proposed the preparation of nanoparticles from an amphiphilic copolymer obtained by grafting polycaprolactone onto cashew gum. The synthesis of three copolymers was performed with different percentages, by mass, of polycaprolactone, and it was confirmed by infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance. The copolymers showed self-assembled capacity in water with critical association concentration ranging from 42 to 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The nanoparticles were characterized by dynamic light scattering and scanning electron microscopy. The diameter of the nanoparticles show a decreasing trend with increasing polycaprolactone graft percentage (226 - 202 nm). Epirubicin was used as a hydrophobic drug model and incorporated into the nanoparticles. The diameter of the nanoparticles with epirubicin increased in relation to the diameter of the unloaded nanoparticles (299 - 267 nm). All systems presented an unimodal size distribution, zeta potential above 30 mV in modulus and spherical structure. The stability of the nanoparticles was studied in water at 4 °C and in phosphate buffer pH 7.4 at 37 °C. For the unloaded nanoparticles, a not very common behavior for colloidal systems was observed, which is a decrease of the diameter during the stability study in water, called anti-Ostwald maturation. All loaded nanoparticles stability, both at physiological pH and during storage in water at 4 °C. The encapsulation efficiency of epirubicin in the nanoparticles ranged from 50 to 60% (w/w) and the drug load ranged from 5.0 to 6.0% (w/w).

Keywords: Cancer. Drug Delivery Systems. Amphiphilic Copolymer. Anacardium occidentale. Caprolactone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Epirrubicina.....	18
Figura 2	- (A) Monossacarídeos componentes da estrutura da goma do cajueiro do Nordeste do Brasil. (B) Proposta de representação estrutural de um segmento da goma do cajueiro (R representa ramnose ou arabinose).....	26
Figura 3	- Estrutura da policaprolactona.....	27
Figura 4	- Representação esquemática da reação de síntese de um copolímero da PCL por ROP via mecanismo de coordenação-inserção utilizando o Sn(Oct) ₂ como catalisador (R-OH, representa um polissacarídeo).....	29
Figura 5	- FTIR para a goma do cajueiro e os copolímeros.....	39
Figura 6	- Espectro de RMN ¹ H da goma do cajueiro.....	40
Figura 7	- Espectros de RMN ¹ H dos copolímeros.....	41
Figura 8	- Espectro de RMN ¹³ C para o copolímero GCPCL 10.....	43
Figura 9	- Relação entre a razão de intensidade (I ₃₃₈ /I ₃₃₄) do espectro de excitação do pireno versus a concentração do copolímero anfifílico em água a 25 °C.....	44
Figura 10	- Nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona.....	46
Figura 11	- Distribuição de tamanho das nanopartículas sem a EPI.....	46
Figura 12	- Distribuição de tamanho das nanopartículas com a EPI.....	48
Figura 13	- Microscopia eletrônica de varredura das NPGCPCL 10 (A) e NPGCPCL10/EPI (B).....	49
Figura 14	- Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 2,5.....	50
Figura 15	- Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 5.....	50
Figura 16	- Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 10.....	51
Figura 17	- Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 2,5/EPI.....	52

Figura 18	- Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 5/EPI.....	52
Figura 19	- Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 10/EPI.....	53
Figura 20	- Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C da dispersão NPGCPCL 2,5/EPI.....	54
Figura 21	- Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C da dispersão NPGCPCL 5/EPI.....	54
Figura 22	- Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C da dispersão NPGCPCL 10/EPI.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Novos casos e óbitos de câncer em 2018 no mundo.....	16
Tabela 2	-	Dados experimentais para a reação de síntese dos copolímeros utilizando o Sn(Oct) ₂ como catalisador.....	32
Tabela 3	-	Rendimento reacional.....	38
Tabela 4	-	Razão A ₂₉₃₁ /A ₁₀₇₈ e A ₁₇₂₅ /A ₁₀₇₈ para os copolímeros.....	39
Tabela 5	-	Propriedades dos copolímeros.....	42
Tabela 6	-	Concentração de associação crítica dos copolímeros em água a 25 °C.....	45
Tabela 7	-	Propriedades das nanopartículas auto-organizadas sem e com EPI em água a 25 °C.....	47
Tabela 8	-	ANOVA para estabilidade em água a 4 °C das nanopartículas...	56
Tabela 9	-	ANOVA para estabilidade em água a 4 °C das nanopartículas com EPI.....	57
Tabela 10	-	ANOVA para estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C.....	57
Tabela 11	-	Eficiência de encapsulamento e carga de fármaco das nanopartículas.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CL	ϵ -caprolactona
CF	Carga de fármaco
CAC	Concentração de associação crítica
DMSO	Dimetil sulfóxido
DMAP	Dimetilaminopiridina
EPR	Efeito de permeabilidade e retenção
EE	Eficiência de encapsulamento
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPI	Epirrubicina
FTIR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GC	Goma do cajueiro
GCPCL	Goma do cajueiro enxertada com policaprolactona
GP _{PCL}	Grau de polimerização da policaprolactona
GS	Grau de substituição
IPD	Índice de polidispersão
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LCC	Líquido da casca da castanha
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NPGCPCL	Nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com policaprolactona
NPGCPCL/EPI	Nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com policaprolactona com epirrubicina encapsulada
Sn(Oct) ₂	Octanoato de estanho
% _{PCL}	Porcentagem em massa de policaprolactona
PCL	Policaprolactona
P ζ	Potencial zeta
RR	Rendimento reacional

RMN	Ressonância magnética nuclear
ROP	<i>Ring opening polymerization</i>
SM	Substituição molar
S _N 2	Substituição nucleofílica bimolecular
TEA	Trietilamina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Câncer	16
1.1.1	<i>Epirrubicina</i>	18
1.2	Sistemas de liberação de fármacos	19
1.3	Nanopartículas	20
1.4	Polissacarídeos	23
1.4.1	<i>Goma do cajueiro</i>	24
1.5	Policaprolactona	27
1.5.1	<i>Polimerização via abertura de anel</i>	28
2	OBJETIVOS	30
2.1	Objetivo geral	30
2.2	Objetivos específicos	30
3	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	Materiais	31
3.2	Isolamento da goma do cajueiro	31
3.3	Síntese do copolímero	31
3.4	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	32
3.5	Ressonância magnética nuclear (RMN)	33
3.6	Solubilidade dos copolímeros	34
3.7	Concentração de associação crítica (CAC)	34
3.8	Preparação das nanopartículas por auto-organização	35
3.9	Encapsulamento da epirrubicina	35
3.10	Espalhamento dinâmico de luz	36
3.11	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	36
3.12	Estabilidade das nanopartículas	36
3.12.1	<i>Análise estatística</i>	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Síntese dos copolímeros	38
4.2	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	38
4.3	Ressonância magnética nuclear (RMN)	40

4.4	Solubilidade dos copolímeros.....	43
4.5	Concentração de associação crítica (CAC).....	43
4.6	Espalhamento dinâmico de luz	45
4.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	48
4.8	Estabilidade das nanopartículas.....	49
4.8.1	<i>Estabilidade estoque das nanopartículas em água a 4 °C</i>	49
4.8.2	<i>Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C</i>	53
4.8.3	<i>Análise estatística</i>	55
4.8.3.1	<i>Análise estatística da estabilidade estoque das nanopartículas sem EPI em água a 4 °C</i>	56
4.8.3.2	<i>Análise estatística da estabilidade estoque das nanopartículas com EPI em água a 4 °C</i>	57
4.8.3.3	<i>Análise estatística da estabilidade das nanopartículas com EPI em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C</i>	57
4.9	Encapsulamento da epirubicina	58
5	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

O câncer é um grande problema de saúde pública em todo o mundo e a segunda principal causa de morte nos países desenvolvidos, sendo responsável por 18,1 milhões de novos casos (17 milhões excluindo o câncer de pele não melanoma) e 9,6 milhões de mortes (9,5 milhões excluindo o câncer de pele não melanoma) em 2018 (BRAY *et al.*, 2018).

Entre os tipos de câncer com maior incidência em ambos os sexos, o câncer de pulmão é o mais diagnosticado (2.093.876 casos em 2018) seguido pelo câncer de mama (2.088.849 casos em 2018) (BRAY *et al.*, 2018). Os outros tipos de câncer mais incidentes no mundo estão expostos da Tabela 1.

Tabela 1 – Novos casos e óbitos de câncer em 2018 no mundo

Tipos de câncer	Novos casos diagnosticados (%)	Óbitos (%)
<i>Pulmão</i>	2.093.876 (11,6%)	1.761.007 (18,4%)
<i>Mama</i>	2.088.849 (11,6%)	626.679 (6,6%)
<i>Próstata</i>	1.276.106 (7,1%)	358.989 (3,8%)
<i>Cólon</i>	1.096.601 (6,1%)	551.269 (5,8%)
<i>Pele não melanoma</i>	1.042.056 (5,8%)	65.155 (0,7%)
<i>Estômago</i>	1.033.701 (5,7%)	782.685 (8,2%)
<i>Fígado</i>	841.080 (4,7%)	781.631 (8,2%)
<i>Reto</i>	704.376 (3,9%)	310.394 (3,2%)
<i>Esôfago</i>	572.034 (3,2%)	508.585 (5,3%)
<i>Cervical</i>	569.847 (3,2%)	311.365 (3,3%)
<i>Tireoide</i>	567.233 (3,1%)	41.071 (0,4%)
<i>Bexiga</i>	549.393 (3,0%)	199.922 (2,1%)
<i>Linfoma não-Hodgkin</i>	509.590 (2,8%)	248.724 (2,6%)
<i>Pâncreas</i>	458.918 (2,5%)	432.242 (4,5%)
<i>Leucemia</i>	437.033 (2,4%)	309.006 (3,2%)
<i>Rim</i>	403.262 (2,2%)	175.098 (1,8%)
<i>Outros</i>	3.835.002 (21,1%)	2.091.205 (21,9%)

Fonte: Adaptado de Bray *et al.* (2018).

No Brasil, de acordo com uma pesquisa realizada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), o câncer com maior incidência em ambos os sexos é o câncer de pele não melanoma, que é um tipo de tumor menos letal. A segunda posição é ocupada pelo câncer de próstata, em homens, e câncer de mama, em mulheres (INCA, 2018).

Essa pesquisa ainda aponta que 1,2 milhões de novos casos de câncer devem surgir no Brasil entre os anos de 2018 e 2019. Só para o ano de 2018, a estimativa é que surgissem 582.000 novos casos, sendo 300.000 em homens e 282.000 em mulheres.

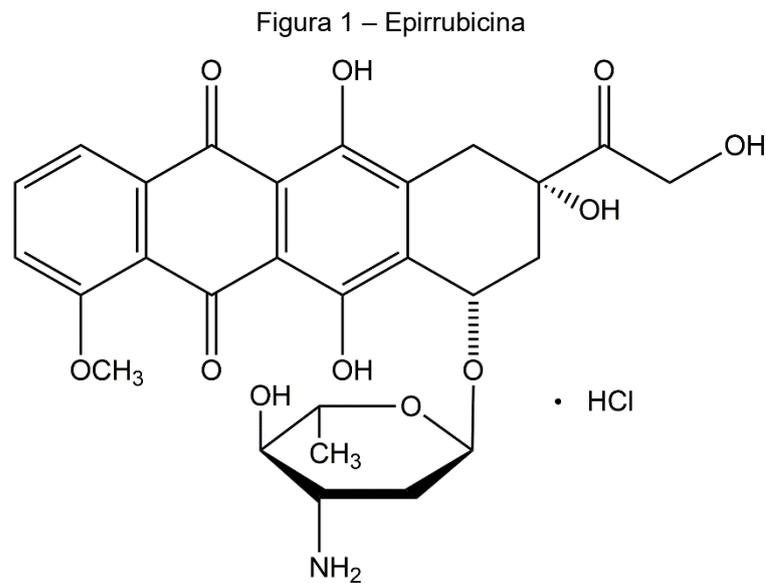
Devido a esses números alarmantes têm-se buscado novas estratégias para melhorar os tratamentos existentes contra o câncer que atualmente consistem em cirurgia, radioterapia e quimioterapia. Esses tipos de tratamentos são definidos pelo tipo de câncer, estágio diagnosticado e tolerância do paciente a terapia prescrita (WOLINSKY; COLSON; GRINSTAFF, 2012).

Em casos de tumores localizados em uma área limitada do corpo, a cirurgia e a radioterapia são os tratamentos escolhidos. No entanto, a maioria dos pacientes requer o uso de dois ou mais tratamentos, devido ao potencial de disseminação da doença, bem como para prevenir efetivamente a evolução da doença em estágios iniciais e avançados. Nesses casos a quimioterapia também pode ser combinada com esses tratamentos para aumentar a eficiência do tratamento da doença (GAVHANE *et al.*, 2011).

Dentre os tipos de tratamentos citados, a quimioterapia tem sido o principal, por se tratar de um sistema capaz de combater o câncer disseminado por todo o corpo, já que os fármacos anticancerígenos utilizados podem atuar por todo o organismo. No entanto, os fármacos anticancerígenos apresentam baixa solubilidade em água, o que afeta diretamente a biodisponibilidade do mesmo no organismo. Como consequência, o tratamento contra o câncer envolve a administração de elevadas concentrações de fármacos e/ou elevados números de doses, o que acarreta o aumento da toxicidade do fármaco no organismo (IGLESIAS *et al.*, 2018). Além disso, a maioria dos fármacos anticancerígenos são instáveis, o que prejudica a eficiência do tratamento, como é o caso da epirrubicina.

1.1.1 Epirrubicina

A epirrubicina (EPI) é um agente quimioterápico bem conhecido pertencente ao grupo das antraciclinas que têm tido bastante sucesso contra uma variedade de tipos de câncer, como câncer de esôfago (FAN *et al.*, 2018), de pulmão (SONG *et al.*, 2017) e de mama (BAHREYNI *et al.*, 2019). A EPI é comercializada na forma de cloridrato de epirrubicina (Nuovodox®) (Figura 1). O Nuovodox® é um produto liofilizado para uso injetável por via intravenosa ou intravesical que apresenta em sua formulação a lactose como excipiente farmacêutico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O mecanismo de ação mais renomado da EPI ocorre através da intercalação entre os pares de bases de DNA suprimindo a síntese de DNA e RNA (TARIQ *et al.*, 2015). Além disso, ela é capaz de inibir a atividade da topoisomerase II e regular o nível de espécies reativas de oxigênio, causando morte de células cancerígenas (LIU *et al.*, 2017).

No entanto, o uso da EPI livre na clínica é severamente restrito, devido a duas limitações principais, baixa biodisponibilidade e grave toxicidade para o tecido saudável (ZHOU *et al.*, 2017). Portanto, existe a necessidade de desenvolver novos sistemas de liberação de fármacos que possibilitem o aumento da biodisponibilidade do fármaco no organismo e reduzam os efeitos colaterais dessa molécula.

1.2 Sistemas de liberação de fármacos

Nos últimos anos muitas pesquisas têm sido focadas no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos para a administração oral e/ou intravenosa, devido à terapia convencional de administração de fármacos por muitas vezes ser limitada pela baixa solubilidade, biodisponibilidade e permeabilidade celular dos fármacos (BADRAN *et al.*, 2018; PIAZZA *et al.*, 2018). Além disso, a grande maioria dos fármacos anticancerígenos são hidrofóbicos e apresentam alta toxicidade, e o organismo humano tem a tendência de eliminar os compostos insolúveis em água através do metabolismo hepático (JEANNOT *et al.*, 2018).

Diante dessas dificuldades, o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos que possam minimizar esses problemas tem se tornado uma tarefa desafiadora para a indústria farmacêutica e biomédica. Os sistemas poliméricos obtidos por modificação, mistura e/ou combinação de diferentes polímeros sob a forma de partículas (ABREU *et al.*, 2016), emulsões de pickering (RICHTER *et al.*, 2018), filmes (LI *et al.*, 2017) e géis (DEBELE; MEKURIA; TSAI, 2016) têm sido amplamente investigados, por oferecem uma administração de fármacos com uma taxa de liberação controlada, de forma estável e biologicamente ativa.

As principais vantagens dos sistemas de liberação de fármacos incluem a proteção do fármaco contra variação de pH, temperatura e presença de enzimas. O aumento da biodisponibilidade do fármaco no organismo, maior tempo de circulação, liberação controlada do fármaco, redução do número de doses aplicadas durante o tratamento, melhor penetração intracelular e entrega direcionada a locais específicos ou órgãos por meio de modificações específicas na superfície das nanopartículas são outras vantagens (KHOSA; REDDI; SAHA, 2018).

Nesse contexto, a utilização de polissacarídeos ou copolímeros de polissacarídeos/polímeros sintéticos tem apresentado resultados promissores como carreadores de fármacos. Eles podem estar na forma de nanopartículas utilizando diferentes métodos de preparação, entre os quais se pode destacar emulsão (ALVES *et al.*, 2017; RICHTER *et al.*, 2018), precipitação (DIAS *et al.*, 2016; MAZUMDER; DEWANGAN; PAVURALA, 2017), complexo polieletrólítico (SILVA *et al.*, 2010; ORTIZ *et al.*, 2018) e auto-organização (PITOMBEIRA *et al.*, 2015; ABREU *et al.*, 2016).

1.3 Nanopartículas

Nanopartículas são estruturas com dimensões na escala nanométrica que tem se destacado para aplicações na área de cosméticos, alimentos e principalmente na área farmacêutica, sendo utilizadas como sistemas carreadores de fármacos, pois desempenham um papel fundamental na proteção dos fármacos contra fatores ambientais (pH, temperatura) e degradação enzimática (DE PAULA; FEITOSA; PAULA, 2015).

Para a utilização de nanopartículas como sistemas carreadores de fármacos é necessário que estes sistemas apresentem algumas propriedades específicas relacionadas ao diâmetro médio, a distribuição de tamanho (índice de polidispersão), carga das nanopartículas (potencial zeta), morfologia das nanopartículas, estabilidade físico-química em meio biológico e durante o período de armazenamento (sozinho e/ou com o princípio ativo), eficiência de encapsulamento, carga de fármaco, tipo de liberação e finalmente o destino biológico das nanopartículas.

O diâmetro médio das nanopartículas e sua distribuição são de extrema importância para aplicação biológica, influenciando a estabilidade, solubilidade e taxa de liberação. Sistemas carreadores de fármacos normalmente apresentam diâmetro médio na faixa de 10-1000 nm. No entanto, sistemas coloidais desenvolvidos para aplicação na indústria farmacêutica em locais específicos devem apresentar diâmetro médio variando de 50 a 300 nm por proporcionar uma maior captação das células e ação rápida e controlada no organismo. Sistemas coloidais com diâmetro acima de 300 nm são indicados para administração oral (KHOSA; REDDI; SAHA, 2018).

A distribuição de tamanho de partículas em sistemas coloidais representada pelo índice de polidispersão (IPD) e o potencial zeta (P ζ) são importantes para a estabilidade físico-química durante o período de armazenamento desses sistemas. Valores de IPD baixo (0,10 – 0,25) indicam boa distribuição de tamanho e valores acima de 0,5 indicam elevada distribuição, podendo apresentar baixa estabilidade de armazenamento (TAMJIDI *et al.*, 2013).

O potencial zeta é o potencial elétrico de uma partícula em dispersão, definido pelo potencial da interface sólido-líquido, próximo ao plano de cisalhamento hidrodinâmico da partícula. Essa propriedade está interligada com a morfologia da superfície das partículas e influencia diretamente a estabilidade da dispersão. No

entanto, o potencial zeta não depende apenas das partículas, mas também das propriedades da solução como: pH, força iônica e condutividade (XU, 2008). Valores de potencial negativo ou positivo em partículas resultarão na repulsão das partículas diminuindo a tendência de agregação. Partículas com potencial zeta de ± 30 mV apresentam boa estabilidade coloidal (KHOSA; REDDI; SAHA, 2018).

A morfologia refere-se às características externas das partículas, como forma e estrutura superficial, que influencia significativamente a eficiência de encapsulamento, a carga de fármaco e a estabilidade físico-química das partículas (partículas esféricas geralmente são mais estáveis que partículas não esféricas) (TAMJIDI *et al.*, 2013).

A estabilidade físico-química de partículas em meio biológico é uma característica necessária para o bom desempenho do fármaco no organismo, devido à importância da estabilidade da formulação para manter a atividade do fármaco encapsulado e proporcionar uma liberação controlada (KHOSA; REDDI; SAHA, 2018).

No que diz respeito à utilização de nanopartículas como sistemas carreadores de fármacos, na literatura são relatados a diminuição dos efeitos colaterais de certos fármacos, destacando-se os anti-inflamatórios não-esteroides, os quais frequentemente causam irritação à mucosa gastrointestinal (ZHANG; SUN; JIANG, 2018), proteção de proteínas e peptídeos, degradáveis no trato gastrointestinal, aumentando a biodisponibilidade dos mesmos (BATISTA *et al.*, 2018). Além disto, é reportado na literatura que as nanopartículas podem resolver muitos desafios da administração de fármacos anticancerígenos que incluem: melhorar a solubilidade e a estabilidade do fármaco, prolongar o tempo de circulação do fármaco no sangue, reduzir efeitos adversos em órgãos não alvos e atingir altas concentrações terapêuticas no local da doença (KHAN; GURAV, 2018).

Para o tratamento do câncer, as nanopartículas são ótimas ferramentas para a administração de fármacos, porque elas têm a capacidade de se acumular passivamente nos tumores, devido ao efeito de permeabilidade e retenção (EPR). O EPR acontece devido a uma combinação do endotélio fenestrado (permeabilidade) e a ineficiente drenagem linfática do tumor, que gera o efeito de retenção, facilitando a liberação do fármaco por difusão (DUFORT; SANCEY; COLL, 2012).

Nesse contexto, nanopartículas poliméricas auto-organizadas estão emergindo como uma opção atrativa para o tratamento do câncer devido a sua alta

capacidade como sistema carreador de fármacos (boa difusão dos fármacos, aumento da biodisponibilidade e diminuição dos efeitos colaterais), distribuição de tamanho adequada e propriedades ajustáveis como: tamanho, morfologia e carga superficial. Além disso, esses sistemas podem formar suspensões coloidais altamente estáveis em água (PALAO-SUAY *et al.*, 2016).

Nesse cenário, muitos polímeros têm sido estudados para produção de nanopartículas, inclusive polímeros naturais. Eles desempenham um papel importante na obtenção de nanopartículas aplicáveis na área farmacêutica, especialmente os polissacarídeos, devido às suas propriedades físico-químicas, baixo custo, disponibilidade e características biodegradáveis. Além disso, as nanopartículas sintetizadas a partir de polissacarídeos permitem o controle das suas propriedades físico-químicas (diâmetro médio e potencial zeta), proporcionando uma redução da toxicidade e da degradação dos fármacos no organismo (YANG *et al.*, 2015).

No entanto, os polissacarídeos são geralmente muito solúveis em água e modificações químicas e/ou físicas precisam ser realizadas para fabricar sistemas carreadores de fármacos. Atualmente, muitos estudos relatam a obtenção de copolímeros à base de polissacarídeos pela inserção de um polímero sintético ou pela copolimerização de um monômero em cadeias de polissacarídeos, formando enxertos e/ou copolímeros de bloco empregados para fabricar sistemas de liberação de fármacos (DE PAULA; FEITOSA; PAULA, 2015).

A copolimerização de um monômero hidrofóbico na cadeia de polissacarídeos (hidrofílicos) promove a formação de copolímeros anfifílicos, que podem ser utilizados na formação de nanopartículas por auto-organização (PALAO-SUAY *et al.*, 2016).

Copolímeros anfifílicos têm sido amplamente estudados por seu potencial de aplicação na indústria farmacêutica devido a sua capacidade de formar nanopartículas por auto-organização com alta diversidade de tamanho e morfologia, com capacidade para o encapsulamento de fármacos hidrofóbicos, onde a parte hidrofílica forma o invólucro das nanopartículas e a parte hidrofóbica o núcleo. Essas nanopartículas podem ser formadas com a variação da temperatura, pH e mudança de polaridade da solução (troca de solvente) (PALAO-SUAY *et al.*, 2016).

1.4 Polissacarídeos

Os polímeros naturais geralmente são divididos em quatro categorias diferentes, que incluem os polissacarídeos, as proteínas, os ácidos nucleicos e os lipídios (KRYLOV, 2009). Eles desempenham um papel importante no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, especialmente os polissacarídeos, por serem não tóxicos, estáveis, biodegradáveis e biocompatíveis (DEBELE; MEKURIA; TSAI, 2016; PISTONE *et al.*, 2017). Além disso, os polissacarídeos são abundantes na natureza e possuem baixo custo no processamento, podendo ser encontrados em algas (alginato), plantas (celulose), microrganismos (dextrana) e animais (quitosana) (YANG *et al.*, 2015).

Polissacarídeos são definidos como macromoléculas naturais de carboidratos compostas por unidades repetidas de monossacarídeos conectadas por ligações glicosídicas. Eles podem conter vários grupos reativos em suas cadeias moleculares, tais como grupos hidroxila, carboxila e amino, o que os torna suscetível a modificações químicas, bioquímicas e associação com outros polímeros (MALVIYA; KUMAR; KUMAR, 2016; GARCIA-VALDEZ; CHAMPAGNE; CUNNINGHAM, 2018).

A modificação e a associação de polissacarídeos com polímeros sintéticos têm sido cada vez mais investigadas na busca de um material polivalente em termos de sensibilidade ao meio exterior e com potencial de desempenhar funções cada vez mais complexas (MALVIYA; KUMAR; KUMAR, 2016; GARCIA-VALDEZ; CHAMPAGNE; CUNNINGHAM, 2018).

Nesse contexto, o estudo das propriedades físico-químicas e biológicas dos polissacarídeos levou ao reconhecimento desses polímeros naturais como um biomaterial promissor para os campos da indústria farmacêutica e biomédica. Além disso, as propriedades de certos polissacarídeos como abundância, biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade e algumas atividades terapêuticas específicas, contribuem para a escolha dessas macromoléculas para a síntese de novos materiais (LIU; WILLFO; XU, 2015; YANG *et al.*, 2015).

1.4.1 Goma do cajueiro

As gomas são polímeros naturais formados por unidades de monossacarídeos em arranjos lineares ou ramificados, pertencentes à classe dos carboidratos, capazes de formar dispersões ou soluções altamente viscosas a baixas concentrações, sendo incolores, inodoras, insípidas e não tóxicas (ANDRADE *et al.*, 2013). As gomas podem ser obtidas de exsudatos de árvore (goma arábica e goma do cajueiro), de sementes (goma guar), de algas (alginato), de animais (quitosana) ou por fermentação microbológica (dextrana) (CUNHA; DE PAULA; FEITOSA, 2009).

As gomas de exsudatos são produzidas naturalmente pelas células epiteliais de revestimento das plantas quando o córtex é agredido por injúrias físicas ou ataque microbiano e são caracterizadas como heteropolissacarídeos complexos, ramificados e polidispersos (STEPHEN; PHILLIPS; WILLIAMS, 2006).

A goma do cajueiro (GC) é um polissacarídeo hidrofílico e ramificado extraído do exsudato da árvore *Anacardium occidentale*, popularmente conhecida como “cajueiro”, extensivamente cultivada no Nordeste do Brasil, especificamente no Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte.

O cajueiro é uma planta nativa com considerável capacidade adaptativa a solos de baixa fertilidade, a temperaturas elevadas e ao estresse hídrico, que se destaca como planta frutífera tropical em decorrência da crescente comercialização dos seus principais produtos, a amêndoa da castanha do caju, o líquido da casca da castanha (LCC) e o próprio caju (SMITH *et al.*, 1992).

O Brasil está entre os cinco maiores produtores de castanha do mundo, e o Estado do Ceará destaca-se como maior produtor nacional com 68.097 toneladas do fruto em 2018, cerca de 53,2% da produção do país (IBGE, 2018). Diante da enorme produção, o aproveitamento de todos os coprodutos da cajucultura tem chamado muita atenção. A goma do cajueiro surge com um potencial de aplicação industrial, podendo substituir a goma arábica devido a sua semelhança estrutural (ramificações) e química (monossacarídeos componentes) (PORTO; AUGUSTO; CRISTIANINI, 2015).

Bandeira (1991) mostrou que uma árvore de cajueiro pode produzir em média 700 g de goma/ano. Levando em consideração que em 2018 a área plantada de cajueiro no Brasil era de 317.020 hectares (IBGE, 2018) e que o adensamento médio é de 100 plantas/hectare, a possibilidade de produção da goma/ano seria de

22.191 toneladas por ano.

A GC extraída do exsudato de árvores do nordeste do Brasil foi caracterizada por de Paula e Rodrigues (1995) e de Paula, Heatley e Budd (1998), por meio de técnicas de ressonância magnética nuclear, cromatografia de permeação em gel, espalhamento de luz e viscosimetria. É um heteropolissacarídeo contendo β -D-galactose (72-73%), α -D-glucose (11-14%), arabinose (4,6-5,0%), ramnose (3,2-4,0%) e ácido glucurônico (4,7-6,3%) em percentagem de massa, tendo uma cadeia principal de galactose ligada por C-1 e C-3 e ramificações de galactose ligada por C-1 e C-6, com cadeias laterais podendo ser formadas por unidades de glucose, além de arabinose, ramnose e ácido glucurônico, como grupos terminais (Figura 2).

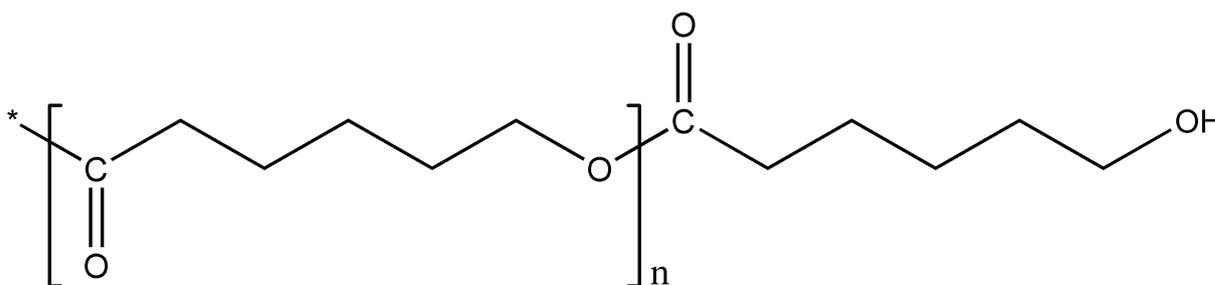
Os grupos reativos da goma do cajueiro são restritos às hidroxilas e carboxilatos. Modificações químicas na estrutura deste polissacarídeo têm sido realizadas de modo a produzir derivados com novas características físico-químicas pela introdução de grupos funcionais usando: carboximetilação (SILVA *et al.*, 2004), oxidação (CUNHA *et al.*, 2007), sulfatação (MOURA NETO *et al.*, 2011) e acetilação (PITOMBEIRA *et al.*, 2015), ou associação com outros polímeros por reação de enxertia de monômeros como: acrilamida (SILVA; DE PAULA; FEITOSA, 2007), N-isopropilacrilamida (ABREU *et al.*, 2016) e L-lactídeo (RICHTER *et al.*, 2018).

Alguns autores reportam a possibilidade do uso da GC em vários setores, porém, sua aplicação em meio industrial ainda não foi estabelecida (RIBEIRO *et al.*, 2016). Dessa maneira, a estratégia em longo prazo para promover o uso da GC na indústria é, portanto, associa-la a outros materiais buscando desenvolver novas propriedades que possam apresentar utilidade para indústria. Dentre estas, está a sua associação com a policaprolactona obtendo um copolímero anfifílico com potencial para o preparo de nanopartículas para encapsulamento de fármacos hidrofóbicos para aplicação na indústria farmacêutica.

1.5 Policaprolactona

A policaprolactona (PCL) é um poliéster alifático linear e semicristalino composto por unidades de repetição de hexanoato (Figura 3). Na temperatura ambiente (25 °C), é solúvel em clorofórmio, diclorometano, acetona, e insolúvel em álcoois, éter de petróleo e água (LABET; THIELEMANS, 2009).

Figura 3 - Estrutura da policaprolactona



Fonte: Elaborado pelo autor.

A PCL é um polímero não tóxico, biodegradável e biorreabsorvível aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para ser utilizado como biomaterial (MALIKMAMMADOV *et al.*, 2018). A PCL apresenta alta estabilidade térmica, excelente biocompatibilidade e resistência elástica, o que permite que esse biomaterial seja amplamente utilizado em aplicações biomédicas, como suturas, implantes biomédicos para engenharia de tecidos e sistemas de administração de fármacos na indústria farmacêutica (DASH; KONKIMALLA, 2012).

Na engenharia de tecidos, a PCL e seus derivados são investigados para a produção de suportes (*scaffolds*) para a regeneração óssea (SZOJKA *et al.*, 2017), vascular (ABDAL-HAY; BARTINIKOWSKI; HAMLET, 2018), cardiovascular (SEKUŁA *et al.*, 2017) e tecido cartilaginoso (YIN *et al.*, 2017). Nesses suportes, a PCL tem papel importante na regulação da biodegradação e aumento da elasticidade.

Na área farmacêutica os materiais à base da PCL são utilizados para a produção de microesferas e nanopartículas utilizadas na liberação controlada de fármacos, onde essas partículas atuam na redução da toxicidade dos fármacos, no aumento da solubilidade de fármacos hidrofóbicos e no seu direcionamento ativo ou passivo aos tecidos alvos. A alta permeabilidade da PCL a diversas moléculas permite que elas sejam liberadas da matriz por difusão. Além disso, o produto de degradação

da PCL é o ácido 6-hidroxi-hexanoico, que é um metabólico natural do corpo humano, ou seja, não altera o pH do meio e possibilita a incorporação de proteínas e anticorpos para a produção de vacinas, sem que as moléculas percam sua atividade (SINHA *et al.*, 2004; DHANKA; SHETTY; SRIVASTAVA, 2017; KAMARAJ *et al.*, 2017).

Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos utilizando a PCL para fins biomédicos associada com polissacarídeos naturais, tais como: dextrana (SALDÍAS *et al.*, 2015), quitosana (GU *et al.*, 2014), celulose (GUO *et al.*, 2013), pululana (SHADY *et al.*, 2013), goma guar (TIWARI; PRABAHARAN, 2010) e amido (SUGIH *et al.*, 2009). Essa associação leva à produção de materiais com propriedades importantes para diversas aplicações, em razão de combinar as propriedades dos polímeros constituintes e propiciar propriedades adicionais por efeito sinérgico (ANBINDER *et al.*, 2016).

1.5.1 Polimerização via abertura de anel

A polimerização via abertura de anel (*ring opening polymerization*, ROP) da ϵ -caprolactona (CL) é comumente abordada para a síntese da PCL e de seus copolímeros, tendo três mecanismos principais: catiônico, aniônico e coordenação-inserção. As duas primeiras rotas são alternativas e a última é a mais utilizada industrialmente (LABET; THIELEMANS, 2009).

A ROP catiônica é a menos atrativa do ponto de vista industrial e acadêmico, visto que somente ácidos extremamente fortes são capazes de iniciar a polimerização catiônica da CL. A reação envolve a formação de uma espécie catiônica que é atacada pelo oxigênio da carbonila do monômero através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) (STRIDSBERG; RYNER; ALBERTSSON, 2002).

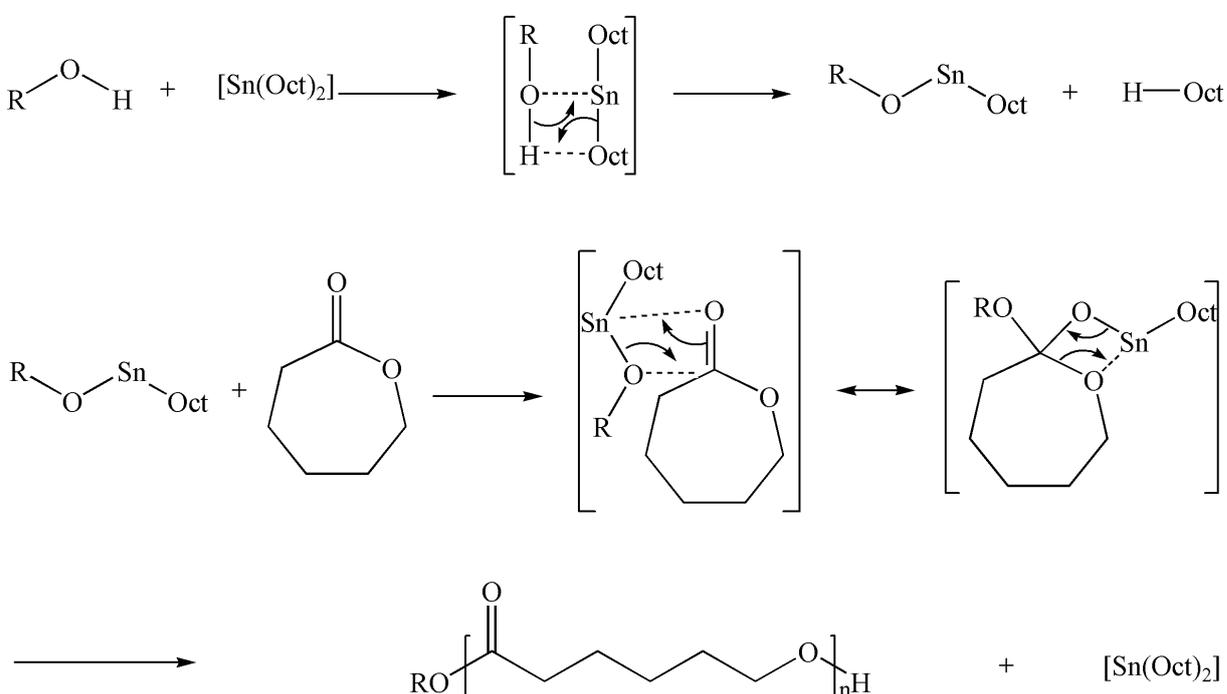
A ROP aniônica envolve a formação de uma espécie aniônica que ataca o carbono carbonílico da CL. O monômero é aberto na ligação acil-oxigênio e a espécie em crescimento é um alcóxido (STRIDSBERG; RYNER; ALBERTSSON, 2002).

Vários autores propõem a utilização de compostos orgânicos de metais como estanho, alumínio, ítrio, zinco, lítio e ferro como catalisadores para a ROP via mecanismo de coordenação-inserção da CL. Dentre esses compostos o 2-etil-hexanoato de estanho (II), abreviado para octanoato de estanho [$\text{Sn}(\text{Oct})_2$], é utilizado como catalisador da reação de polimerização. O $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, além de ser aceito pela

FDA para fins alimentícios e biomédicos, apresenta solubilidade em solventes orgânicos e monômeros de ésteres cíclicos, facilitando a reação de síntese (STRIDSBERG; RYNER; ALBERTSSON, 2002).

A ROP via mecanismo de coordenação-inserção é a forma mais comum e importante na síntese dos copolímeros da PCL. A reação envolve duas etapas: na primeira o catalisador $[\text{Sn}(\text{Oct})_2]$ se coordena com a hidroxila do polissacarídeo formando um alcóxido de estanho, que na segunda etapa interage com a CL, promovendo a clivagem da ligação acil-oxigênio, inserindo o monômero entre a ligação do estanho com o oxigênio, promovendo o crescimento da cadeia polimérica (Figura 4) (STRIDSBERG; RYNER; ALBERTSSON, 2002).

Figura 4 - Representação esquemática da reação de síntese de um copolímero da PCL por ROP via mecanismo de coordenação-inserção utilizando o $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ como catalisador (R-OH, representa um polissacarídeo)



Fonte: Adaptado de Labet e Thielemans (2009).

A copolimerização da CL via abertura de anel utilizando o $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ como catalisador promove a formação de estruturas anfífilas pela inserção da PCL na cadeia lateral de um polissacarídeo, com potencial para preparação de nanopartículas utilizadas na solubilização de fármacos hidrofóbicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona para o encapsulamento do fármaco epirrubicina.

2.2 Objetivos específicos

Sintetizar copolímeros de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona;

Avaliar o efeito da razão molar goma do cajueiro/ ϵ -caprolactona na formação dos copolímeros;

Caracterizar os copolímeros por espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN);

Determinar a concentração de associação crítica (CAC) dos copolímeros;

Preparar nanopartículas dos copolímeros via auto-organização;

Empregar as nanopartículas no encapsulamento do fármaco epirrubicina;

Caracterizar as nanopartículas por espalhamento dinâmico de luz e microscopia eletrônica de varredura (MEV);

Estudar a estabilidade das nanopartículas em água a 4 °C e em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C;

Determinar a eficiência de encapsulamento (EE) e a carga de fármaco (CF) das nanopartículas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

O exsudato do cajueiro (*Anacardium occidentale*) foi fornecido pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). A ϵ -caprolactona (CL) 97% (v/v), usada como monômero sintético, e o octanoato de estanho [Sn(Oct)₂], utilizado como catalisador, foram adquiridos da Sigma Aldrich®. O dimetil sulfóxido (DMSO), etanol P. A. e acetona P. A. utilizados como solvente e não solvente foram adquiridos da Vetec®. O DMSO e a CL foram secos em peneira molecular antes da realização da síntese.

3.2 Isolamento da goma do cajueiro

O isolamento da goma do cajueiro foi baseado no método desenvolvido por Rodrigues, de Paula e Costa (1993). O método consiste na dissolução de 10 g de exsudato bruto em 100 mL de água destilada. A solução foi filtrada em funil de placa sinterizada número 1, a fim de remover os resíduos sólidos. O pH foi ajustado para 7,0 pela adição de NaOH_(aq) 1 mol L⁻¹ e a força iônica ajustada pela adição de 1 g de NaCl_(s). Em seguida, o polissacarídeo foi precipitado em etanol e o precipitado foi filtrado em funil de placa sinterizada número 3, lavado com etanol e acetona e seco com jato de ar quente.

3.3 Síntese do copolímero

A síntese do copolímero foi realizada por polimerização via abertura de anel da ϵ -caprolactona, segundo a metodologia descrita por Saldías *et al.* (2015) para a dextrana, com algumas modificações. 1 g de GC, previamente seca em estufa a 105 °C durante a noite (14 h), foi dissolvida em 20 mL de DMSO em atmosfera de nitrogênio a 100 °C por 1 h. Posteriormente, a CL e o catalisador Sn(Oct)₂ foram adicionados ao sistema reacional com auxílio de uma seringa e o sistema mantido a 100 °C. Após 24 h de reação o sistema foi mantido a temperatura ambiente por 1 h, colocado em membrana de diálise (14.000 g mol⁻¹) contra água destilada, trocando a água da diálise duas vezes ao dia e liofilizado. O fim da diálise (3 dias) foi determinado

por espectrofotometria no ultravioleta visível (190 - 300 nm) utilizando um espectrofotômetro Shimadizu® modelo UV-1800. Em seguida, o copolímero foi disperso em acetona sob agitação magnética (300 rpm) por 48 h para dissolver o homopolímero que pode ter sido formado durante a reação de enxertia. Por fim, o copolímero foi filtrado em funil de placa sinterizada número 3, lavado com acetona e seco com jato de ar quente.

Foram realizadas três sínteses variando a proporção molar GC:CL (Tabela 2). A concentração de catalisador foi mantida constante em todas as reações (2% (v/v) em relação ao DMSO). Os copolímeros obtidos foram nomeados de GCPCL, o número após a sigla significa o número de mols de CL adicionados para 1 mol de GC. O número de mols de GC foi calculado levando em consideração a massa molar da unidade monossacarídica galactose (162 g mol⁻¹).

Tabela 2 - Dados experimentais para a reação de síntese dos copolímeros utilizando o Sn(Oct)₂ como catalisador

Copolímeros	Proporção molar GC:CL	Volume de CL (mL)
GCPCL 2,5	1:2,5	1,70
GCPCL 5	1:5	3,40
GCPCL 10	1:10	6,80

Fonte: Elaborado pelo autor.

O rendimento reacional (RR) foi calculado de acordo com a Equação 1:

$$RR = \frac{\text{massa de copolímero}}{\text{massa inicial de (goma + } \varepsilon \text{ - caprolactona)}} \times 100\% \quad (1)$$

Foi realizada uma reação na proporção molar 1:1 (GC:CL) utilizando o [Sn(Oct)₂] como catalisador. No entanto, com essa proporção não ocorreu a síntese do copolímero.

3.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A GC e os copolímeros foram caracterizados por FTIR a fim de comprovar

a reação de enxertia com a policaprolactona. As amostras foram analisadas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) no espectrofotômetro Shimadzu® modelo IR Trace 100 na região entre 4000 e 400 cm^{-1} .

3.5 Ressonância magnética nuclear (RMN)

A GC e os copolímeros foram caracterizados por ressonância magnética nuclear a fim de confirmar a presença das bandas características da GC e comprovar a reação de enxertia com a policaprolactona. As análises foram realizadas a 70 °C no equipamento Bruker® modelo avance DRX500, utilizando o DMSO deuterado como solvente, os espectros foram ajustados a partir do sinal do solvente.

Com base nos espectros de RMN ^1H a substituição molar (SM), o grau de substituição (GS), o grau de polimerização da PCL (GP_{PCL}) e a percentagem em massa de PCL ($\%_{\text{PCL}}$) dos copolímeros foram determinadas segundo a proposta de Guo *et al.* (2013), com base nas seguintes equações:

$$SM = \frac{I(a' + a)}{2IH_1} \quad (2)$$

$$GS = \frac{Ia'/2}{IH_1} \quad (3)$$

$$\text{GP}_{\text{pcl}} = \frac{SM}{GS} = \frac{Ia}{Ia'} + 1 \quad (4)$$

$$\%_{\text{PCL}} = \frac{114SM}{162 + 114SM} \times 100\% \quad (5)$$

Onde, Ia' é a área da integral referente aos prótons do grupo acila (COCH_2) da unidade final da PCL, Ia é a área da integral referente aos prótons do grupo acila (COCH_2) da unidade de repetição da PCL e IH_1 é o valor da integral da área para o hidrogênio anomérico da galactose. Os valores 114 e 162 na equação 5 são a massa molar da unidade de repetição da PCL (hexanoato) e da unidade monossacarídica da goma do cajueiro (galactose), respectivamente.

A SM pode ser definida no presente trabalho como sendo o número de

unidades de hexanoato por unidade de galactose. O GS como o número de unidades de policaprolactona por unidade de galactose. O GP_{PCL} como o número médio de unidades de hexanoato por cadeia de policaprolactona enxertada (tamanho médio das cadeias de policaprolactona enxertada). A $\%_{PCL}$ como o percentual em massa de policaprolactona no copolímero.

3.6 Solubilidade dos copolímeros

A solubilidade dos copolímeros foi verificada dispersando os copolímeros em H₂O e em DMSO a uma concentração de 10 mg mL⁻¹ sobre agitação magnética (300 rpm) por 24 h. Em seguida, os sistemas foram deixados em repouso por 24 h a temperatura ambiente (25 °C) e observadas visualmente. Os sistemas sem precipitação visível foram considerados solúveis, enquanto os que se apresentaram com precipitação visível foram considerados insolúveis.

3.7 Concentração de associação crítica (CAC)

A concentração de associação crítica (CAC) foi determinada em um espectrômetro de fluorescência (RF-6000 Shimadzu®). Os estudos foram realizados em água usando pireno como uma molécula de sonda fluorescente. Uma solução estoque de pireno em água (5x10⁻⁶ mol L⁻¹) foi preparada a partir de uma solução de pireno 5x10⁻⁴ mol L⁻¹ em acetona. A acetona foi evaporada por um fluxo de nitrogênio.

A concentração de associação crítica foi estabelecida de acordo com a metodologia descrita por Pitombeira *et al.* (2015). O copolímero (10 mg) foi dissolvido em DMSO (20 mL) e colocado em uma membrana de diálise (14.000 g mol⁻¹) contra água destilada. A dispersão resultante foi diluída para várias concentrações de copolímero (10 - 180 µg mL⁻¹). Posteriormente, 500 µL da solução estoque de pireno em água foram adicionados às diferentes concentrações de copolímero, obtendo uma concentração de pireno de 5x10⁻⁷ mol L⁻¹. As soluções foram mantidas à temperatura ambiente (25 °C) por 24 h para atingir o equilíbrio de solubilização do pireno nos domínios hidrofóbicos das nanopartículas.

Os espectros de excitação ($\lambda = 320 - 350$ nm) foram obtidos fixando o comprimento de onda de emissão em 374 nm. A razão de intensidade (I_{338}/I_{334}) pela

concentração logarítmica dos copolímeros foi usada para determinar a CAC de acordo com Patrizi *et al.* (2009). As medidas foram realizadas em triplicata.

3.8 Preparação das nanopartículas por auto-organização

As nanopartículas foram preparadas por auto-organização de acordo com Pitombeira *et al.* (2015). O copolímero (10 mg) foi solubilizado em DMSO (20 mL) e a solução resultante colocada em uma membrana de diálise ($14.000 \text{ g mol}^{-1}$) contra água destilada, trocando a água da diálise duas vezes ao dia. A eliminação do DMSO foi acompanhada para determinar o fim da diálise (3 dias), por espectrofotometria no ultravioleta visível ($\lambda = 190 - 300 \text{ nm}$) utilizando um espectrofotômetro Shimadzu® modelo UV-1800. A concentração das nanopartículas foi recalculada com base no volume final. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.9 Encapsulamento da epirrubicina

O cloridrato de epirrubicina (50 mg) foi dissolvido em 3 mL de dimetilformamida e 5 mols de trietilamina (60 μL) foi adicionado para remover o cloridrato de acordo com Abreu *et al.* (2016). O fármaco foi incorporado às nanopartículas de acordo com Pitombeira *et al.* (2015). O copolímero (10 mg) e a epirrubicina (1 mg) foram dissolvidos em DMSO (20 mL), colocado em uma membrana de diálise ($14.000 \text{ g mol}^{-1}$) contra água destilada durante 72 h e liofilizado.

A quantidade de EPI incorporada às nanopartículas foi determinada pela extração subsequente do fármaco em DMSO a partir de cada formulação. As nanopartículas (20 mg) foram dissolvidas em uma quantidade fixa de DMSO (25 mL) e centrifugado a 40.000 g por 30 minutos para destruição das nanopartículas e extração completa do fármaco. A concentração de EPI foi medida usando um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu UV 1800) em $\lambda = 503 \text{ nm}$ e calculado a partir de uma curva de calibração em DMSO (Equação 6, $R^2 = 0,998$).

$$ABS = 0,029 + 0,019 * C \quad (6)$$

Onde, ABS é a absorvância e C é a concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de EPI em DMSO.

A eficiência de encapsulamento (EE) e a carga de fármaco (CF) foram determinadas de acordo com as seguintes equações:

$$\text{Eficiência de encapsulamento} = \frac{\text{massa de EPI encapsulada}}{\text{massa de EPI adicionada}} \times 100\% \quad (7)$$

$$\text{Carga de fármaco} = \frac{\text{massa de EPI encapsulada}}{\text{massa de nanopartículas}} \times 100\% \quad (8)$$

3.10 Espalhamento dinâmico de luz

O diâmetro médio das nanopartículas, o índice de polidispersão (IPD) e o potencial zeta foram determinados no equipamento Nano Zetasizer da Malvern® modelo ZS 3600. O diâmetro hidrodinâmico foi medido por espalhamento de luz dinâmico com laser a um comprimento de onda de 633 nm e um ângulo de espalhamento fixo de 173°. Cada medida foi realizada em triplicata e sem processo de filtração.

3.11 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada usando um microscópio de emissão QUANTA FEG 450. Uma gota da dispersão de nanopartículas (20 µL) na concentração de 200 µg mL⁻¹ foi depositada sobre uma fita dupla de carbono em um “stub” de alumínio e colocada em um spin-coater KW-4A para espalhar as nanopartículas. Posteriormente, a amostra foi revestida com ouro.

3.12 Estabilidade das nanopartículas

O diâmetro médio e o índice de polidispersão foram analisados como parâmetros de estabilidade das nanopartículas. Esses dois parâmetros foram investigados em duas condições: (I) nanopartículas em água e refrigerada na geladeira a 4 °C e (II) nanopartículas a temperatura de 37 °C em uma solução de tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 7,4.

O primeiro estudo foi realizado em um período de 8 meses para as matrizes e de 3 meses para os sistemas com a EPI. Foram feitas medidas semanais nas primeiras 8 semanas e medidas mensais no período subsequente. As medidas foram realizadas em triplicata a partir das soluções das nanopartículas e sem processo de filtração.

O segundo estudo foi realizado durante um período de 72 h a 37 °C em uma Incubadora de Bancada (CT-712R). A cada cubeta com 500 µL da dispersão de nanopartículas foi adicionado 500 µL de tampão fosfato pH 7,4 e colocadas na Incubadora. Em determinados intervalos de tempo foi realizado as medidas do diâmetro médio e o do IPD no equipamento Nano Zetasizer da Malvern® modelo ZS 3600. Esse estudo foi realizado apenas para os sistemas com a EPI.

3.12.1 Análise estatística

Os parâmetros físico-químicos (diâmetro médio e IPD) foram avaliados para estudar a estabilidade das nanopartículas e os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando a análise de variância (ANOVA) de fator único, com nível de significância de 0,10. O valor-P foi observado para estabelecer a estabilidade das nanopartículas. O Excel foi o programa utilizado na análise.

Para os sistemas com valor de valor-P significativo de acordo com a ANOVA o Teste Tukey foi aplicado com nível de significância de 0,10 utilizando o programa OriginPro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos copolímeros

A goma do cajueiro foi associada à policaprolactona via ROP da ϵ -caprolactona obtendo três copolímeros com diferentes percentuais de PCL. O rendimento reacional foi calculado de acordo com a Equação 1 e os valores estão reportados na Tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento reacional

Copolímeros	RR (% m/m)
GCPCL 2,5	42,0 \pm 1,4
GCPCL 5	27,3 \pm 0,1
GCPCL 10	16,2 \pm 0,5

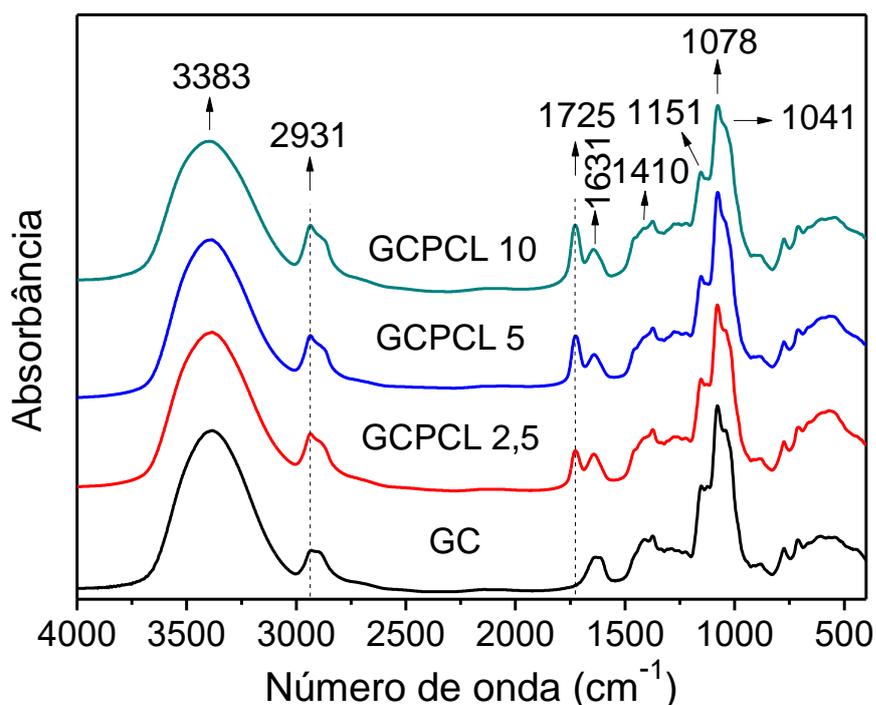
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com o aumento do número de mols de ϵ -caprolactona adicionado à reação, verifica-se uma redução do rendimento reacional. Essa redução do rendimento reacional pode ocorrer devido a uma reação preferencial de polimerização do homopolímero (PCL) em relação à enxertia com a goma.

4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR da GC e dos copolímeros são apresentados na Figura 5. Para o espectro da GC é possível observar bandas de absorção em 3383 cm^{-1} , relativa ao estiramento OH; em 2931 cm^{-1} , atribuída ao estiramento CH; em 1631 cm^{-1} , devido ao estiramento assimétrico COO^- e vibrações OH da umidade do polissacarídeo; em 1410 cm^{-1} , referente ao estiramento simétrico COO^- e em 1151, 1078 e 1041 cm^{-1} características do estiramento COC da ligação glicosídica (CUNHA *et al.*, 2007).

Figura 5 - FTIR para a goma do cajueiro e os copolímeros



Fonte: Elaborado pelo autor.

Comparando os espectros dos copolímeros com o espectro da GC é possível verificar um aumento na intensidade relativa do estiramento CH em 2931 cm^{-1} , e o aparecimento de uma banda de absorção em 1725 cm^{-1} , característica do estiramento C=O de carbonila de éster, indicando a reação de enxertia com a PCL. Além disso, foi possível observar um aumento na intensidade relativa dessas bandas com o aumento da proporção molar GC:CL (Tabela 4). Comportamento semelhante foi observado por Guo *et al.* (2013) e Ge *et al.* (2015) para a celulose e hidroxietil celulose enxertada com a policaprolactona, respectivamente.

Tabela 4 – Razão A_{2931}/A_{1078} e A_{1725}/A_{1078} para os copolímeros

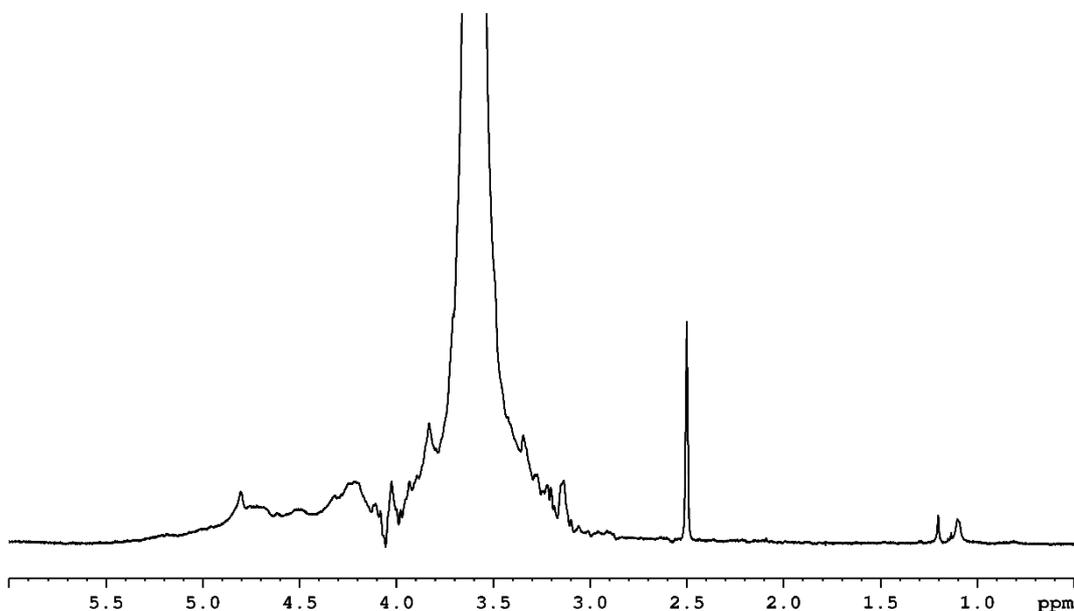
Copolímeros	A_{2931}/A_{1078}	A_{1725}/A_{1078}
GCPCL 2,5	0,21	0,055
GCPCL 5	0,23	0,087
GCPCL 10	0,26	0,112

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Ressonância magnética nuclear (RMN)

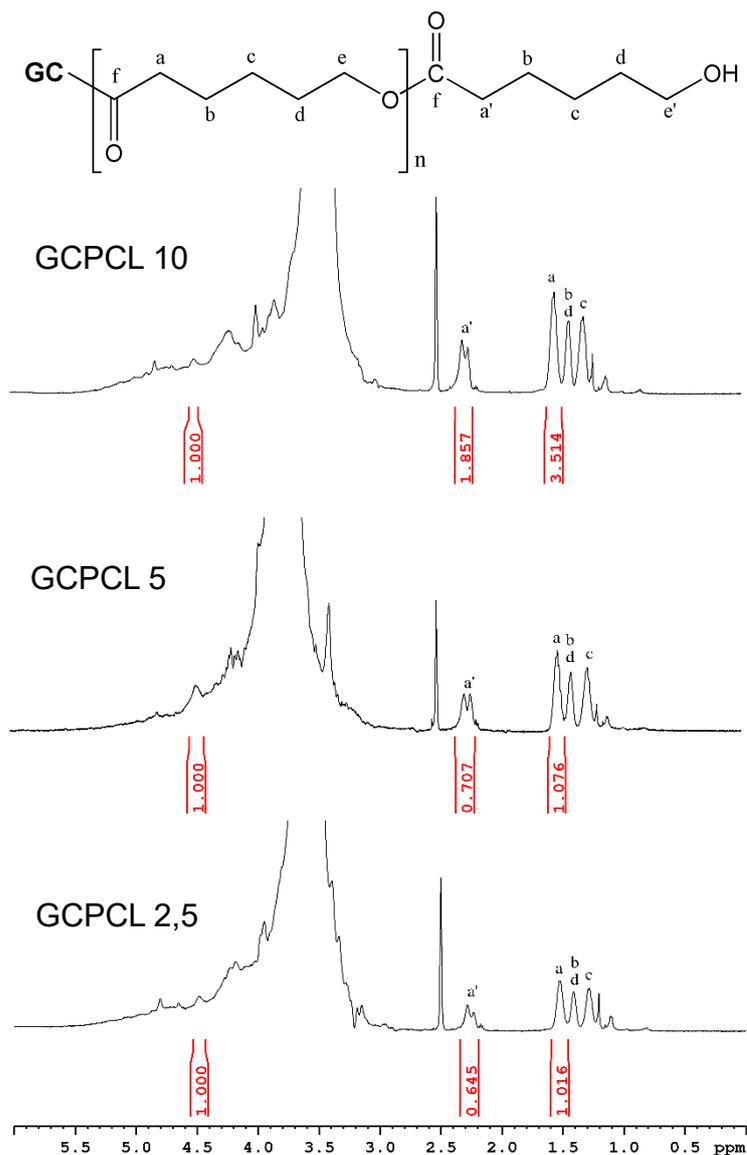
De acordo com a literatura, os sinais característicos dos prótons anoméricos da goma do cajueiro são observados na região entre 4,35 e 4,95 ppm (Figura 6) devido à presença de α -D-glucose (4,95 ppm), α -L-ramnose (4,81 ppm), β -D-galactose (1 \rightarrow 3) (4,69 e 4,43 ppm), ácido β -D-glucurônico (4,51 ppm) e β -D-galactose (1 \rightarrow 6) (4,39 ppm). Os sinais de H-2 a H-5 estão sobrepostos nas regiões de 3,40–4,00 ppm, o sinal em 1,20 ppm é atribuído aos prótons do grupo metila (CH_3) da ramnose e o sinal intenso em 2,50 ppm é correspondente ao DMSO utilizado como solvente para análise (MOURA NETO *et al.*, 2011).

Figura 6 - Espectro de RMN ^1H da goma do cajueiro



Fonte: Elaborado pelo autor.

Nos espectros dos copolímeros é possível observar o aparecimento de sinais da policaprolactona enxertada na goma do cajueiro (Figura 7). Os novos sinais são referentes aos prótons metilênicos da PCL, que são observados em 2,29 ppm referente ao $H_{a'}$ da unidade final (COCH_2); em 1,53 ppm ao H_a da unidade de repetição (COCH_2); em 1,41 ppm ao H_b e H_d (CH_2) e em 1,30 ppm ao H_c (CH_2) (GUO *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2015). Os sinais característicos da unidade de repetição (CH_2O , H_e) e da unidade final (CH_2OH , $H_{e'}$) estão sobrepostos em 4,00 e 3,40 ppm, respectivamente.

Figura 7 - Espectros de RMN ^1H dos copolímeros

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com as atribuições dos prótons da GC e da PCL, a SM, o GS, o GP_{PCL} e a $\%_{\text{PCL}}$ foram calculados utilizando as equações 2 a 5. Os valores obtidos estão reportados na Tabela 5. Com o aumento do número de mols de ϵ -caprolactona adicionado para a síntese do copolímero, verifica-se um aumento da SM, do GS, do GP_{PCL} e da $\%_{\text{PCL}}$.

Tabela 5 - Propriedades dos copolímeros

Copolímeros	SM	GS	GP _{PCL}	%PCL	Solubilidade*	
					H ₂ O	DMSO
GC	-	-	-	-	Solúvel	Insolúvel
PCL	-	-	-	-	Insolúvel	Insolúvel
GCPCL 2,5	0,83	0,32	2,59	36,87	Insolúvel	Solúvel
GCPCL 5	0,89	0,35	2,54	38,51	Insolúvel	Solúvel
GCPCL 10	2,68	0,93	2,88	65,35	Insolúvel	Solúvel

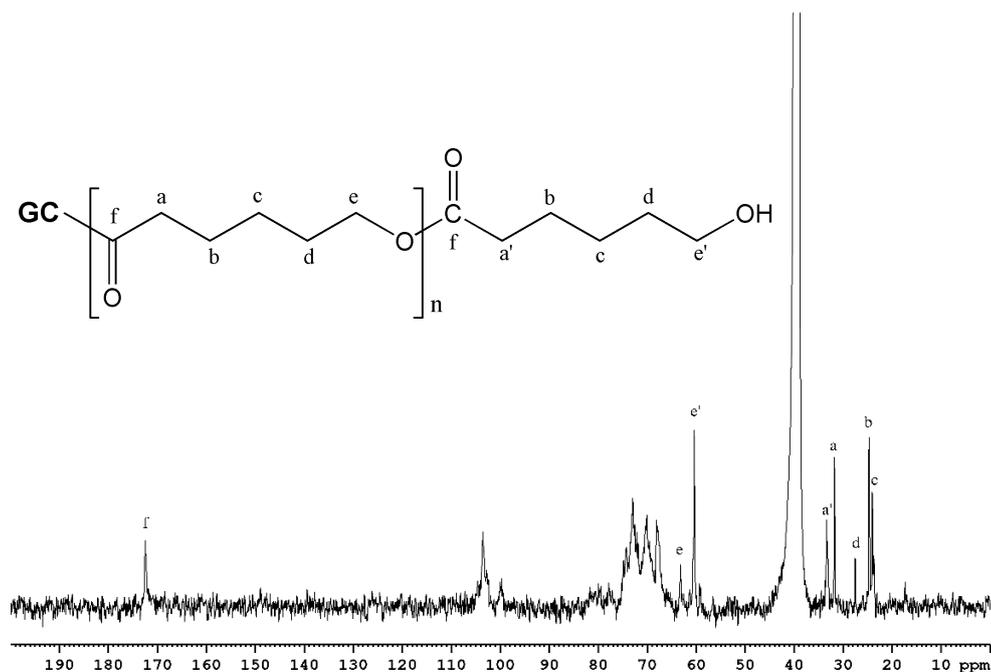
*A solubilidade é a temperatura ambiente (25 °C).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a celulose enxertada com a policaprolactona na proporção 1:10, Guo *et al.* (2013) obtiveram valores de SM (0,68), GS (0,24) e %PCL (32,36) abaixo do obtido nesse trabalho. Já o GP_{PCL} (2,88) foi exatamente igual ao obtido nesse trabalho.

O espectro de RMN ¹³C do copolímero GCPCL 10 é mostrado na Figura 8. No espectro é possível identificar os carbonos anoméricos da GC na faixa de 98 – 105 ppm, os sinais característicos dos carbonos C-2 ao C-6 na faixa de 60 – 85 ppm e um pequeno sinal em 17,4 ppm atribuído ao carbono do grupo metila (CH₃) da ramnose. Os sinais descritos anteriormente são semelhantes aos sinais observados por de Paula, Heatley e Budd (1998).

No espectro da Figura 8, além dos sinais características da GC é possível identificar os sinais referentes aos carbonos da PCL. O sinal do carbono da carbonila da PCL é observado em 172,5 ppm (carbono na posição *f*) e os sinais referentes aos carbonos metilênicos da PCL são observados em 63,5 ppm (carbono na posição *e*), 60,4 ppm (carbono na posição *e'*), 33,4 ppm (carbono na posição *a'*), 31,7 ppm (carbono na posição *a*), 27,6 ppm (carbono na posição *d*), 24,7 ppm (carbono na posição *b*) e 24,1 ppm (carbono na posição *c*) (GUO *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2015).

Figura 8 - Espectro de RMN ^{13}C para o copolímero GCPCL 10

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Solubilidade dos copolímeros

A solubilidade dos copolímeros em H_2O e em DMSO (Tabela 5) foi avaliada com o intuito de escolher os copolímeros que seriam utilizados para preparar as nanopartículas. Todos os copolímeros sintetizados foram utilizados para a preparação das nanopartículas em água via auto-organização, devido à alta solubilidade em DMSO e baixa solubilidade em água.

4.5 Concentração de associação crítica (CAC)

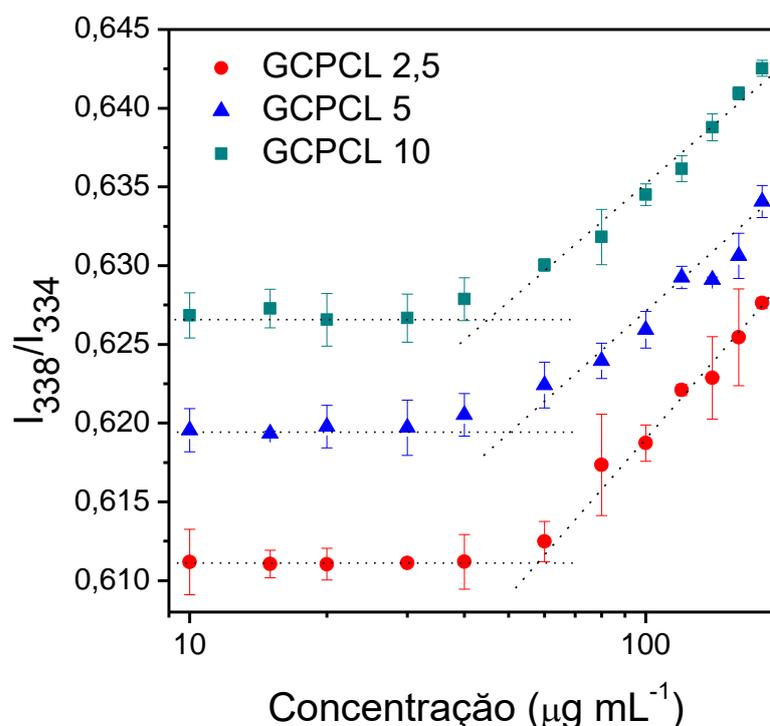
A concentração de associação crítica é um parâmetro importante para demonstrar a capacidade de auto-organização de copolímeros anfífilos. Neste estudo, o comportamento de auto-organização dos copolímeros em água foi investigado por fluorescência utilizando o pireno como sonda fluorescente, já que o pireno tem baixa solubilidade em água e é muito sensível às mudanças de polaridade do ambiente. Quando as nanopartículas são formadas em água, o pireno transfere-se significativamente para os domínios hidrofóbicos, resultando em uma alteração nas suas propriedades fotofísicas. A variação da razão de intensidade (I_{338}/I_{334}) no

espectro de excitação do pireno indica uma mudança na polaridade no ambiente do pireno (KALYANASUNDARAM; THOMAS, 1977; PATRIZI *et al.*, 2009).

A Figura 9 mostra a razão de intensidade de excitação (I_{338}/I_{334}) em função da concentração dos copolímeros em água, onde, pode-se observar que a razão da intensidade I_{338}/I_{334} manteve-se constante a baixas concentrações de copolímero, e então teve um aumento linear à medida que a concentração de copolímero atinge uma concentração limite. A concentração limite é a CAC do copolímero anfifílico, ou seja, é a concentração mínima para a formação das nanopartículas.

Os valores da CAC foram determinados pela interseção entre as retas (Figura 9) e estão relatados na Tabela 6. Pode-se observar um decréscimo da CAC com o aumento do percentual da PCL enxertada na GC, devido ao aumento da hidrofobicidade do copolímero que favorece a formação de domínios hidrofóbicos a baixas concentração do copolímero anfifílicos

Figura 9 - Relação entre a razão de intensidade (I_{338}/I_{334}) do espectro de excitação do pireno versus a concentração do copolímero anfifílico em água a 25 °C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 6 - Concentração de associação crítica dos copolímeros em água a 25 °C

Copolímeros	CAC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
GCPCL 2,5	60
GCPCL 5	50
GCPCL 10	42

Fonte: Elaborado pelo autor.

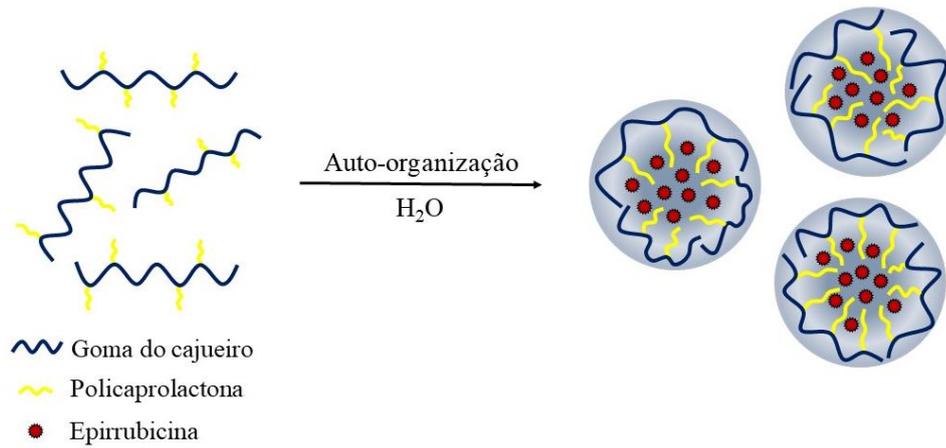
Os valores de CAC observados para a goma do cajueiro enxertada com policaprolactona são semelhantes aos observados por Guo *et al.* (2013) para a celulose enxertada com o mesmo polímero (37,53 a 78,80 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e abaixo dos valores observados por Ge *et al.* (2015) para a hidroxietil celulose enxertada (82,5 a 145,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Esses autores também observaram um decréscimo da CAC como o aumento do conteúdo de cadeias laterais de PCL.

4.6 Espalhamento dinâmico de luz

Nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com policaprolactona foram obtidas via auto-organização utilizando o DMSO como solvente inicial seguido de uma troca lenta do solvente orgânico por água destilada durante o processo de diálise. Após a diálise, a concentração final de nanopartículas foi recalculada de acordo com o volume final das soluções, sendo a concentração final de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para todos os sistemas, portanto maior que as CAC dos copolímeros.

A formação das nanopartículas em água ocorre devido à natureza anfifílica do copolímero de GCPCL que tende a se organizar formando uma estrutura núcleo-casca (Figura 10), na qual os segmentos hidrofóbicos (PCL) do copolímero compõem o núcleo que serve como um nanocontêiner para fármacos pouco solúveis em água. Este núcleo é envolvido por uma camada externa (invólucro), composta pelos segmentos hidrofílicos (GC) do copolímero como descrito por Palao-suay *et al.* (2016).

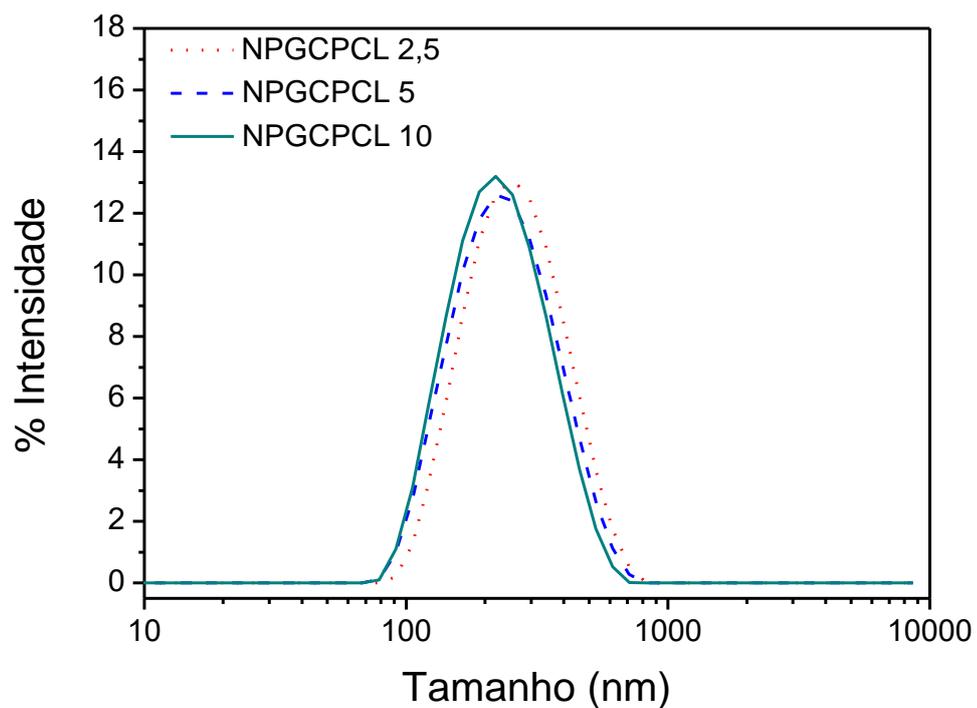
Figura 10 - Nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona



Fonte: Elaborado pelo autor.

O diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas foi obtido por espalhamento dinâmico de luz e todos os sistemas apresentaram distribuição de tamanho unimodal (Figura 11). Os valores de diâmetro, IPD e potencial zeta para as nanopartículas sem e com EPI são apresentados na Tabela 7.

Figura 11 - Distribuição de tamanho das nanopartículas sem a EPI



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7 - Propriedades das nanopartículas auto-organizadas sem e com EPI em água a 25 °C

Nanopartículas	Diâmetro (nm)	IPD	Zeta (mV)
NPGCPCL 2,5	226,0 ± 6,0	0,30 ± 0,07	-35,0 ± 3,0
NPGCPCL 5	212,0 ± 3,0	0,25 ± 0,03	-35,0 ± 2,0
NPGCPCL 10	202,0 ± 4,0	0,24 ± 0,04	-32,0 ± 4,0
NPGCPCL 2,5/EPI	299,0 ± 2,0	0,32 ± 0,03	-33,0 ± 2,0
NPGCPCL 5/EPI	296,0 ± 7,0	0,41 ± 0,02	-31,0 ± 1,0
NPGCPCL 10/EPI	267,0 ± 7,0	0,41 ± 0,05	-31,0 ± 2,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

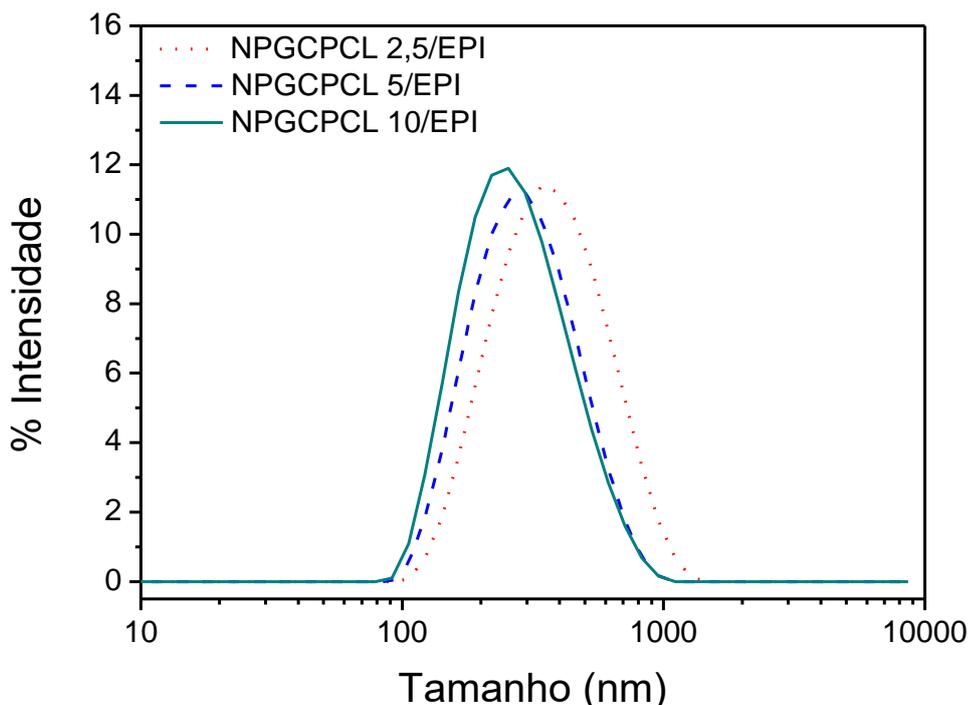
O diâmetro médio das nanopartículas apresenta uma tendência decrescente com o aumento do GS e da %PCL que foram reportados na Tabela 5. Isto deve-se ao fato do aumento de segmentos hidrofóbicos da PCL proporcionar interações hidrofóbicas mais fortes, levando à contração das nanopartículas. O índice de polidispersão das nanopartículas foi baixo para todos os sistemas, indicando boa homogeneidade.

A redução do diâmetro médio das nanopartículas devido ao aumento do conteúdo de cadeias laterais de policaprolactona também foi observado por Guo *et al.* (2013) e Ge *et al.* (2015) para a celulose (98,2 – 18,81 nm) e hidroxietil celulose (145,2 – 82,5 nm) enxertada com policaprolactona, respectivamente.

O potencial zeta é um parâmetro importante, usado para estudar a estabilidade das nanopartículas em um determinado ambiente. Em termos simples, altos valores absolutos de potencial zeta estão relacionados à alta estabilidade das nanopartículas, pois, os fenômenos de agregação são evitados (SALDÍAS *et al.*, 2015). Cargas negativas e valores superiores a 30 mV em módulo foram encontrados para todas as nanopartículas, indicando uma boa estabilidade coloidal. Nanopartículas de GCPCL com cargas negativas já eram esperadas, devido ao grupo ácido presente na estrutura da goma do cajueiro (CUNHA *et al.*, 2007).

As nanopartículas carregadas com o fármaco EPI apresentaram um aumento do diâmetro médio, evidenciando o encapsulamento do fármaco EPI. Todos os sistemas com o fármaco apresentaram distribuição de tamanho unimodal, sem sinais de agregação (Figura 12). Os valores de diâmetro, IPD e potencial zeta para esses sistemas estão reportados na Tabela 7.

Figura 12 - Distribuição de tamanho das nanopartículas com a EPI



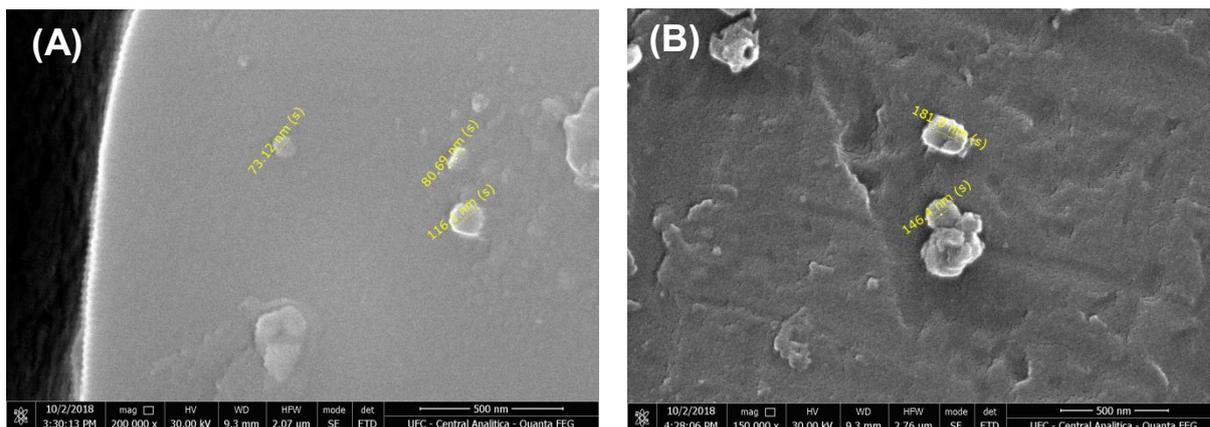
Fonte: Elaborado pelo autor.

Nanopartículas à base da PCL têm sido bastante estudadas para atuar como sistema de liberação de fármacos devido a sua alta permeabilidade, principalmente a fármacos hidrofóbicos (DASH; KONKIMALLA, 2012; JOSEPH *et al.*, 2018). É possível melhorar as propriedades físico-químicas desses sistemas ajustando a proporção dos segmentos hidrofóbicos-hidrofílicos, pela associação da PCL com polissacarídeos (GU *et al.*, 2014; SALDÍAS *et al.*, 2015; VÁSQUEZ MARCANO *et al.*, 2018). Alguns trabalhos também reportam o potencial de nanopartículas à base da GC como sistemas carreadores de fármacos (PITOMBEIRA *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2018).

4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise de MEV mostrou que todas as NPGCPCL apresentam estruturas esféricas, como pode ser observado na Figura 13 para as NPGCPCL 10 e NPGCPCL 10/EPI. O tamanho médio de partícula determinado por MEV foi de 90 ± 23 nm e 164 ± 24 nm, respectivamente.

Figura 13 - Microscopia eletrônica de varredura das NPGCPCL 10 (A) e NPGCPCL 10/EPI (B)



Fonte: Elaborado pelo autor.

O tamanho de partícula menor do que o observado por espalhamento dinâmico de luz pode ser devido ao preparo da amostra por causa da perda de água. Já que por MEV mede-se o tamanho das nanopartículas seca e por espalhamento dinâmico de luz mede-se o diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas em solução, o que inclui não apenas a própria partícula, mas as camadas iônicas e os solventes associados a ela em solução (EATON *et al.*, 2017).

4.8 Estabilidade das nanopartículas

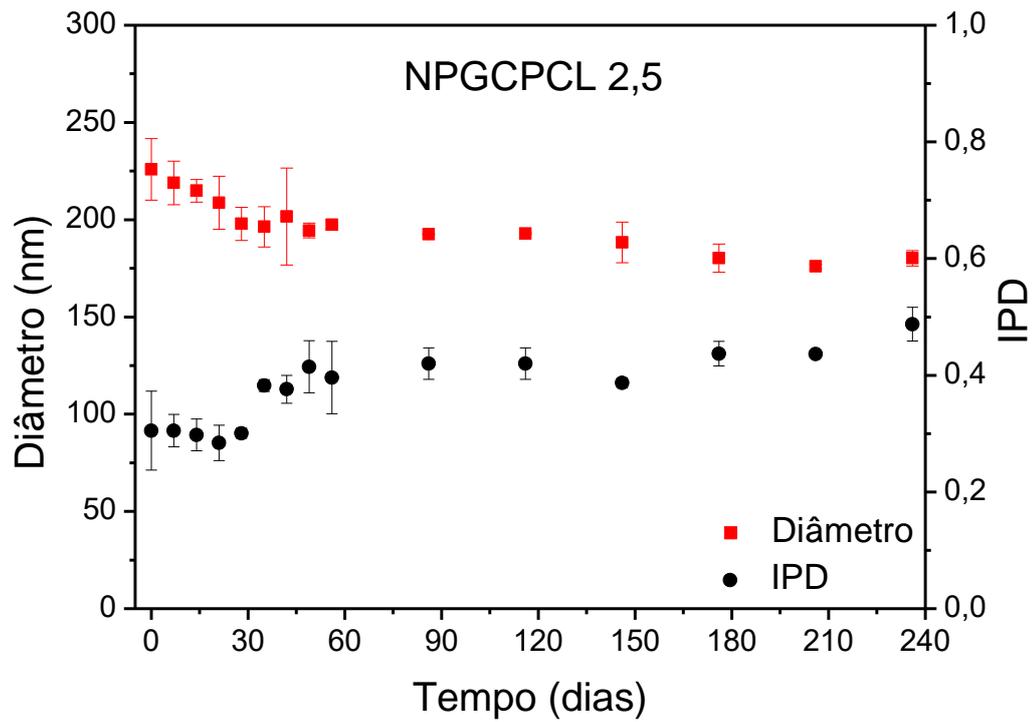
4.8.1 Estabilidade estoque das nanopartículas em água a 4 °C

A estabilidade estoque de nanopartículas poliméricas é de extrema importância para a indústria farmacêutica, pois determina o tempo de vida das nanopartículas, ou seja, pode ser usado para estabelecer o prazo de validade de cada produto. Se a estabilidade de armazenamento das partículas for baixa, as partículas irão agregar, resultando em um grande IPD durante o período de armazenamento (FENG *et al.*, 2018).

Para avaliar a estabilidade estoque das nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com policaprolactona foi monitorado o diâmetro médio e do índice de polidispersão em função do tempo de armazenamento a 4 °C.

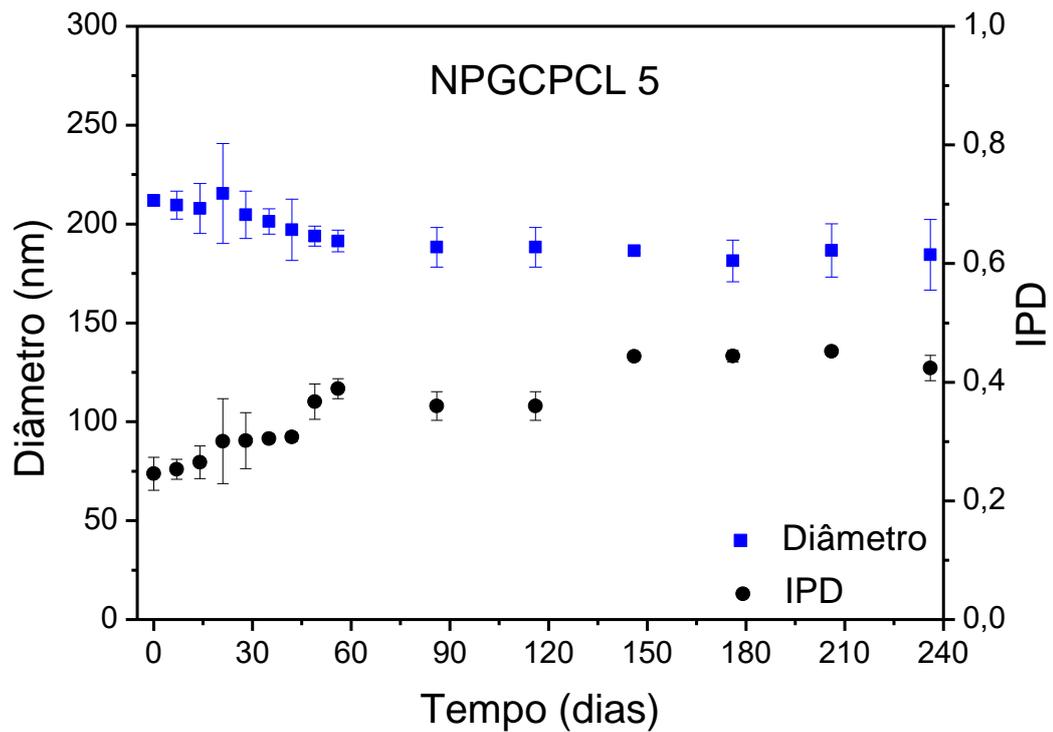
Todos os sistemas sem o fármaco apresentaram um pequeno decréscimo do diâmetro médio e um pequeno aumento do IPD nos primeiros meses, como pode ser observado nas Figuras 14, 15 e 16.

Figura 14 – Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 2,5

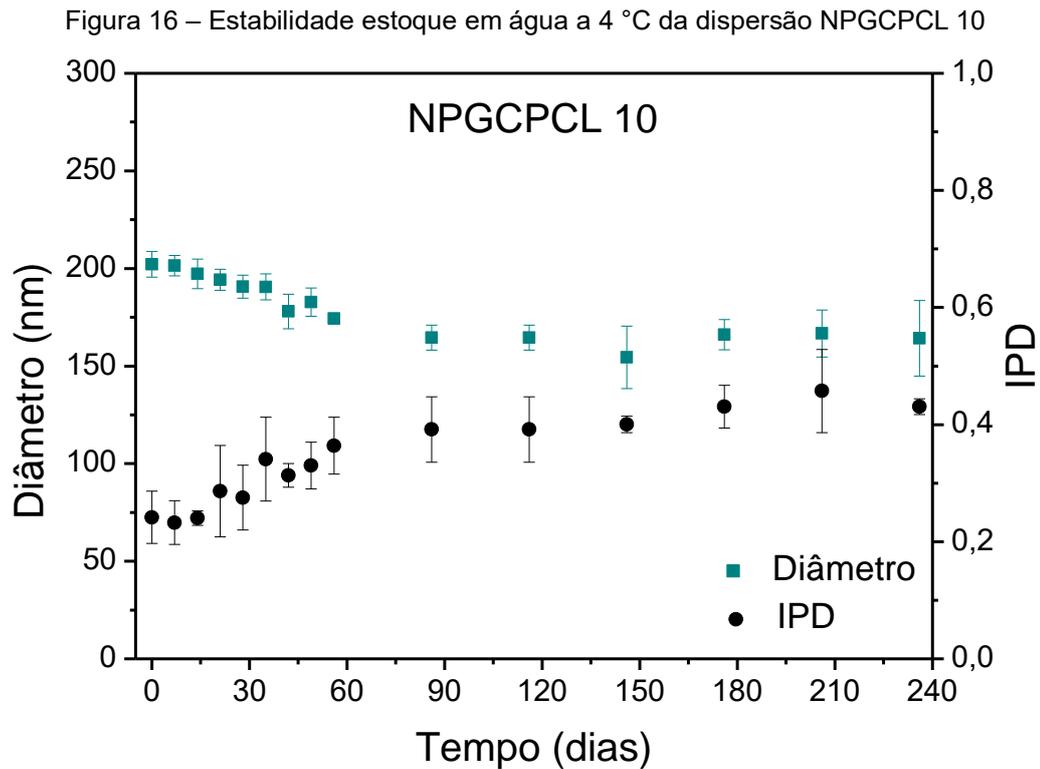


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15 – Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 5



Fonte: Elaborado pelo autor.

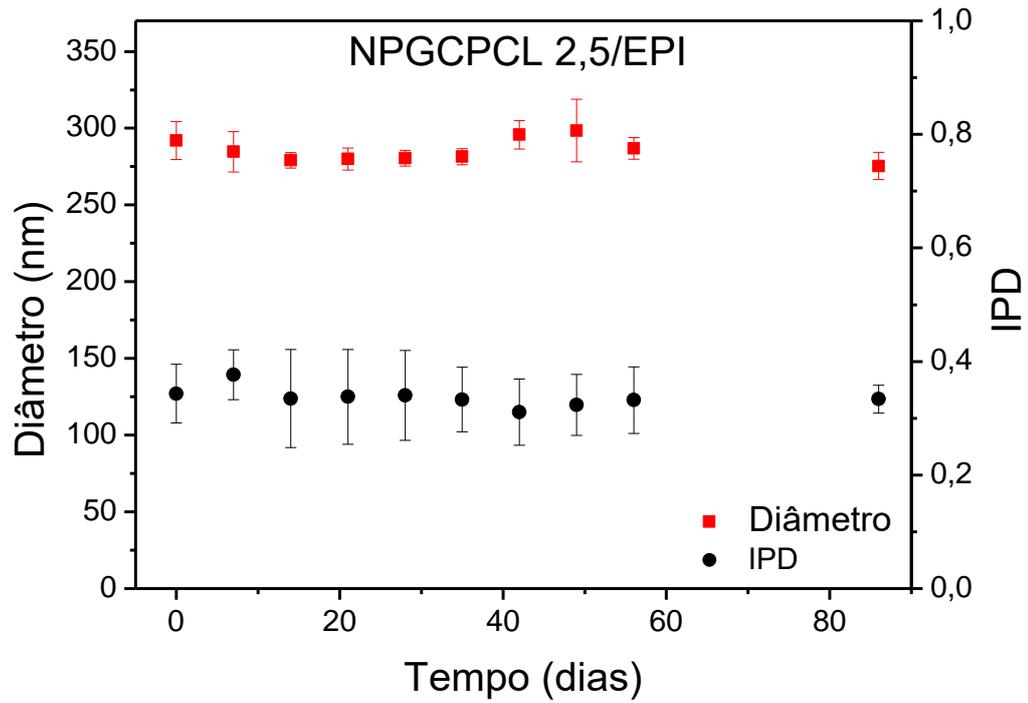


Fonte: Elaborado pelo autor.

O decréscimo do diâmetro médio observado para todos os sistemas coloidais é um processo não muito comum para suspensões coloidais chamado de amadurecimento *anti-Ostwald*. Que é o processo observado para nanopartículas poliméricas por Kumar, Adamson e Prud'homme (2010). Os autores sugerem que esse comportamento pode ocorrer como uma tentativa do sistema de minimizar a energia pela redução da área superficial das nanopartículas, e não pela redução da área interfacial, que ocorre pelo amadurecimento de *Ostwald*. Esse é um processo que descreve a tendência de partículas menores (maior energia) fundir-se umas com as outras formando partículas grandes (menor energia) (QUINTEN, 2011).

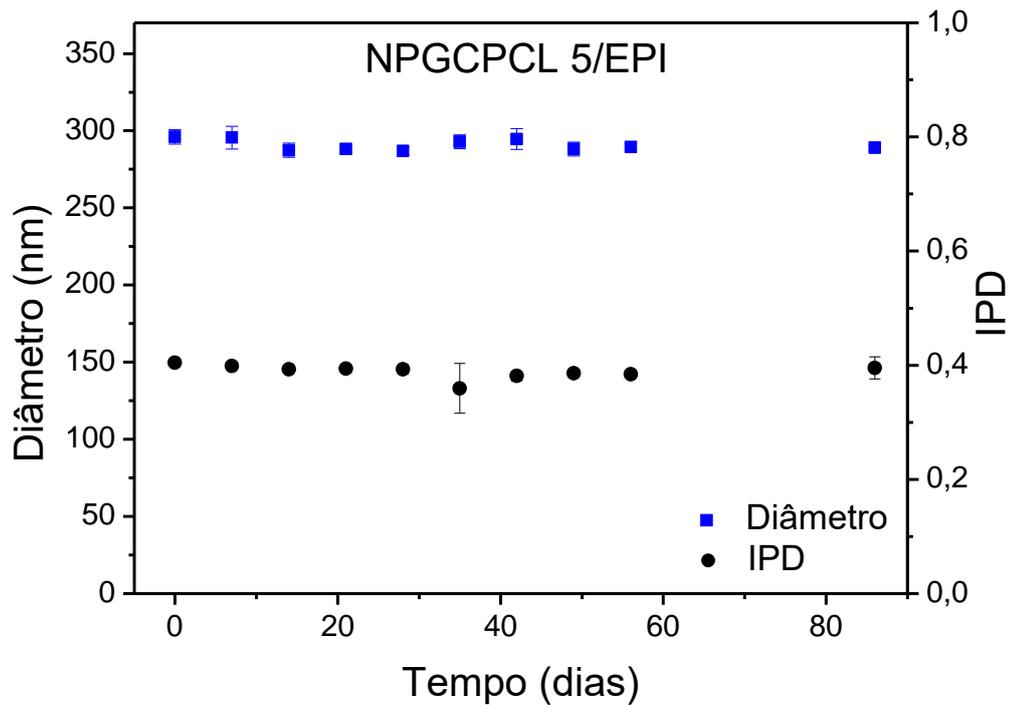
Já para os sistemas com a EPI não foi verificada nenhuma variação significativa do diâmetro médio ou do IPD durante o estudo de estabilidade estoque. Nas Figuras 17, 18 e 19 pode-se observar que todos os sistemas coloidais com EPI são estáveis.

Figura 17 - Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 2,5/EPI



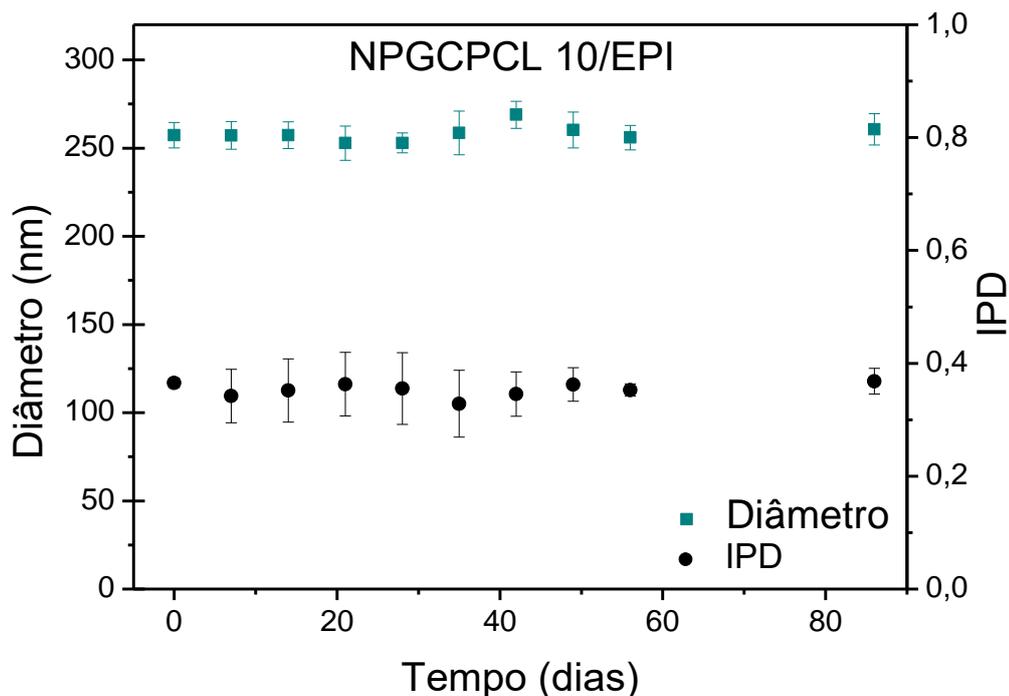
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18 - Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 5/EPI



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19 - Estabilidade estoque em água a 4 °C da dispersão NPGCPCL 10/EPI



Fonte: Elaborado pelo autor.

Santos *et al.* (2017) realizaram o mesmo estudo para nanopartículas de policaprolactona durante 60 dias a 4 e 25 °C. Os parâmetros avaliados, tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta, não apresentaram variações significativas.

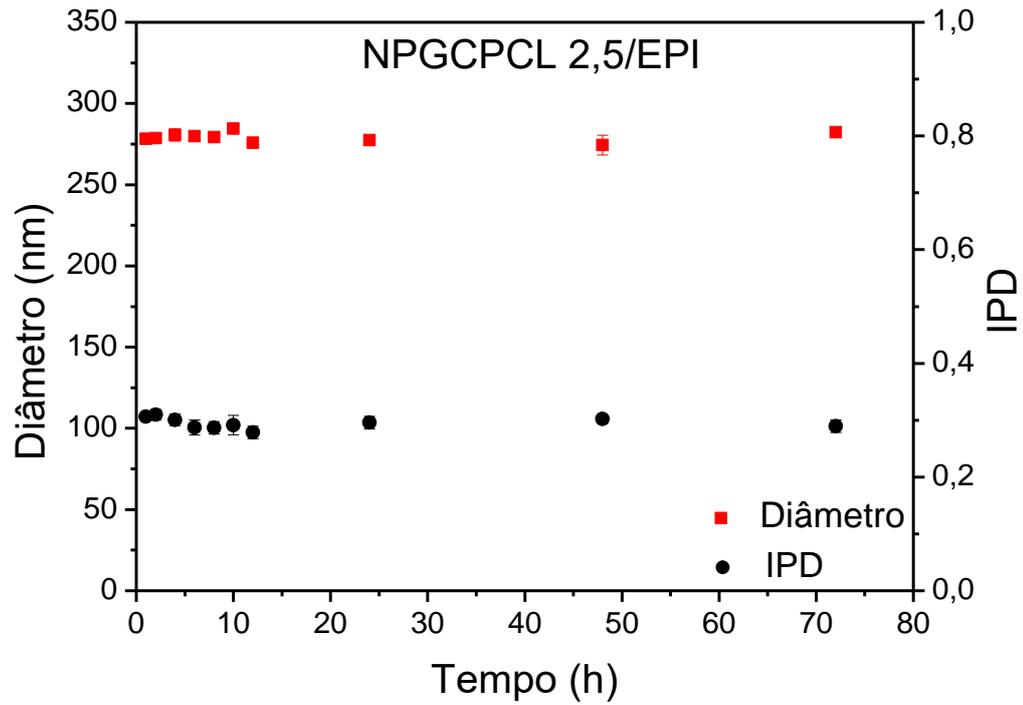
4.8.2 Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C

A estabilidade físico-química de nanopartículas poliméricas é de extrema importância para suas aplicações biológicas, pois afeta diretamente a absorção e a distribuição fisiológica do fármaco (FENG *et al.*, 2018).

Visando uma futura aplicação, foi realizado um estudo de estabilidade das nanopartículas em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C. O diâmetro médio e o IPD das nanopartículas foram os parâmetros avaliados durante um período de 72 h, no qual as nanopartículas permaneceram em contato com o tampão.

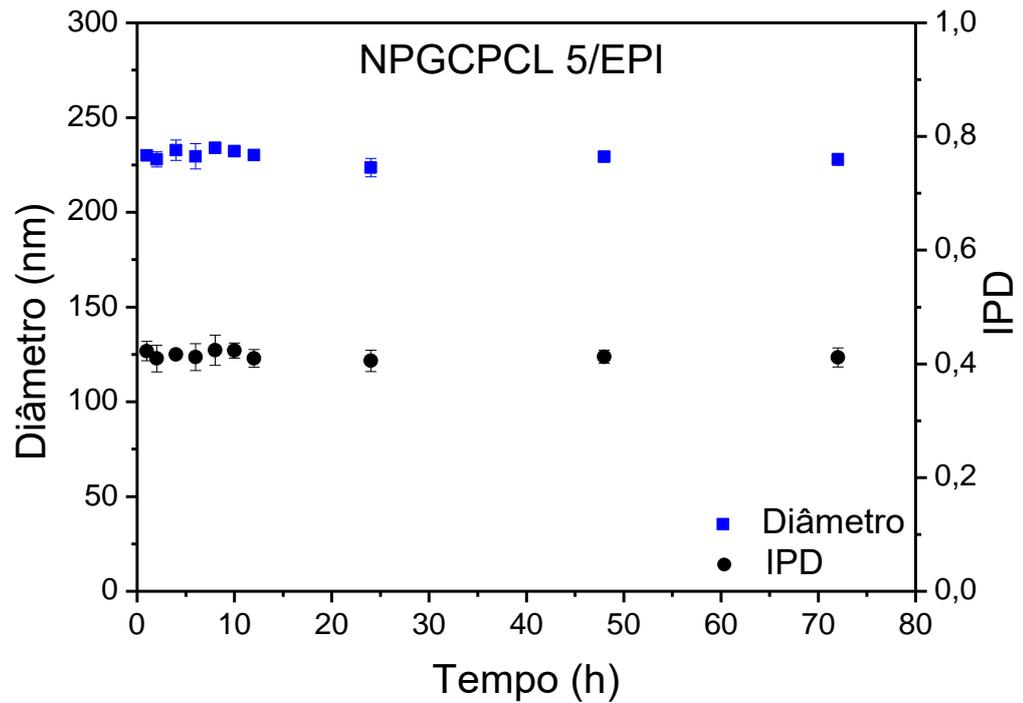
Todos os sistemas apresentaram alta estabilidade em pH fisiológico não sendo possível identificar variações significativas dos parâmetros avaliados (Figuras 20, 21 e 22).

Figura 20 - Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C da dispersão NPGCPCL 2,5/EPI



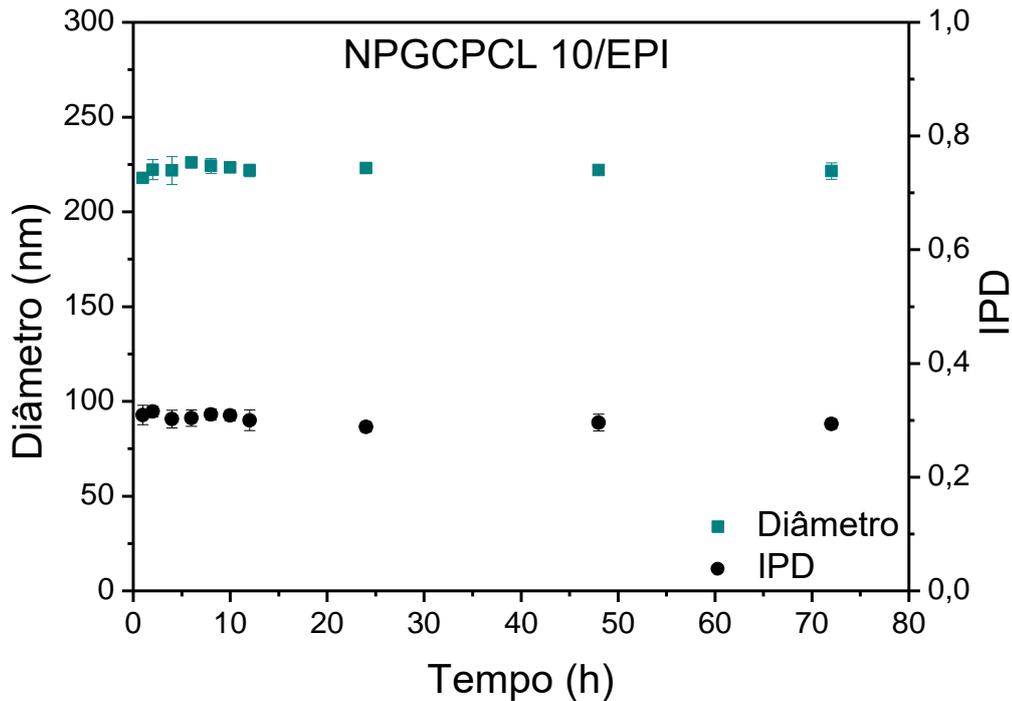
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 21 - Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C da dispersão NPGCPCL 5/EPI



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 22 - Estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C da dispersão NPGCPCL 10/EPI



Fonte: Elaborado pelo autor.

Um estudo similar foi realizado para nanopartículas de poli (ácido lático-co-ácido glicólico) revestidas e não revestidas com poli (cloridrato de alilamina) por Oliveira *et al.* (2017), no qual ambas as formulações foram estáveis em pH fisiológico. Para NPGCPCL/EPI, pode-se notar que os três sistemas são estáveis em pH fisiológico e não mostraram variação do diâmetro médio ou do IPD. Além disso, os valores do IPD ficaram abaixo de 0,4 para todos os sistemas durante todo o estudo, indicando que todos os sistemas são estáveis.

4.8.3 Análise estatística

A ANOVA de fator único com significância de 0,10 foi aplicada para todos os sistemas coloidais com intuito de avaliar o comportamento do diâmetro médio e do IPD durante os estudos de estabilidade. A ANOVA de fator único foi aplicada em função do fator tempo e o nível de significância de 0,10 significa que temos um nível de confiança de 90%. O valor-P foi analisado para estabelecer a estabilidade das nanopartículas. Para valor-P maior que 0,10 considera-se que as nanopartículas são estáveis, ou seja, não existe variação significativa do diâmetro médio ou do IPD, já para valor-P menor do que 0,10 considera-se que as nanopartículas apresentam

variação significativa do diâmetro médio ou do IPD.

Para as amostras que apresentaram valor-P significativo de acordo com a ANOVA o Teste Tukey foi aplicado com nível de significância de 0,10 com intuito de identificar quais médias específicas de populações diferem das outras. Nessa análise é feita comparações pareadas.

4.8.3.1 *Análise estatística da estabilidade estoque das nanopartículas sem EPI em água a 4 °C*

Para a estabilidade estoque a ANOVA mostrou que todos os sistemas apresentam variação significativa tanto do diâmetro médio quanto do IPD durante o estudo. Na Tabela 8 pode-se observar que o valor-P é menor do que 0,10.

Tabela 8 - ANOVA para estabilidade em água a 4 °C das nanopartículas

Nanopartículas	Diâmetro	IPD
	Valor-P	Valor-P
NPGCPCL 2,5	$1,36 \times 10^{-07}$	$1,83 \times 10^{-08}$
NPGCPCL 5	$2,29 \times 10^{-03}$	$7,52 \times 10^{-12}$
NPGCPCL 10	$4,81 \times 10^{-07}$	$3,32 \times 10^{-06}$

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o sistema coloidal NPGCPCL 2,5 o Teste Tukey mostrou que o diâmetro médio dessas nanopartículas não difere significativamente a partir da 5ª semana de análise e o IPD a partir da 6ª semana. Já para o sistema coloidal NPGCPCL 5, o Teste Tukey revelou que o diâmetro médio dessas nanopartículas não difere significativamente a partir da 4ª semana de análise e o IPD a partir da 7ª semana.

O sistema coloidal NPGCPCL 10 não apresentou diferença significativa do diâmetro médio e do IPD a partir da 6ª semana de análise de acordo com o Teste Tukey aplicado.

4.8.3.2 *Análise estatística da estabilidade estoque das nanopartículas com EPI em água a 4 °C*

Para todos os sistemas com EPI, a ANOVA mostrou que eles são estáveis durante os três meses de armazenamento a 4 °C, conforme pode-se observar na Tabela 9 o valor-P é maior que 0,10. Logo nenhum dos sistemas apresentou variação significativa do diâmetro médio ou do IPD.

Tabela 9 - ANOVA para estabilidade em água a 4 °C das nanopartículas com EPI

Nanopartículas	Diâmetro	IPD
	Valor-P	Valor-P
NPGCPCL 2,5	0,17	0,99
NPGCPCL 5	0,11	0,13
NPGCPCL 10	0,58	0,98

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.8.3.3 *Análise estatística da estabilidade das nanopartículas com EPI em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C*

A ANOVA para a estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C mostrou que todos os sistemas são estáveis em pH fisiológico, já que todos os sistemas têm valor-P maior que 0,10 (Tabela 10), ou seja, nenhum dos sistemas apresentou variação significativa do diâmetro médio ou do IPD durante o estudo.

Tabela 10 - ANOVA para estabilidade em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C

Nanopartículas	Diâmetro	IPD
	Valor-P	Valor-P
NPGCPCL 2,5	0,46	0,11
NPGCPCL 5	0,12	0,89
NPGCPCL 10	0,37	0,36

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.9 Encapsulamento da epirrubicina

A EPI foi utilizada como modelo de fármaco anticâncer para avaliar as propriedades das NPGCPCL e os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Eficiência de encapsulamento e carga de fármaco das nanopartículas

Nanopartículas	EE (% m/m)	CF (% m/m)
NPGCPCL 2,5/EPI	60,5 ± 3,4	6,0 ± 0,3
NPGCPCL 5/EPI	56,0 ± 1,3	5,6 ± 0,1
NPGCPCL 10/EPI	50,0 ± 1,0	5,0 ± 0,1

Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando os dados da Tabela 11, observa-se que para as nanopartículas com núcleo mais hidrofóbico (maior percentual de policaprolactona) não ocorreu um aumento da EE ou da CF. Esse comportamento pode ser justificado pelo tamanho de partícula determinado por espalhamento dinâmico de luz, já que as nanopartículas com núcleo mais hidrofóbico apresentaram menores valores de diâmetro médio e por consequência do tamanho possuem menor capacidade para o encapsulamento de fármacos.

Piazza *et al.* (2018) estudaram a eficiência de encapsulamento e a carga de fármaco de nanopartículas de polietilenoglicol monometil éter-co-policaprolactona para o fármaco metotrexato e relataram que o comprimento da cadeia da policaprolactona não influenciou a EE ou a CF das nanopartículas.

5 CONCLUSÃO

A reação de polimerização via abertura de anel da ϵ -caprolactona mostrou-se eficaz para obter copolímeros anfifílicos de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona com diferentes percentuais de enxertia.

Os copolímeros apresentaram capacidade de auto-organização em água com concentração de associação crítica dependente do percentual de policaprolactona enxertada.

As nanopartículas de goma do cajueiro enxertada com a policaprolactona foi obtida via auto-organização em água e apresentou capacidade de encapsular o fármaco epirrubicina.

As nanopartículas com a epirrubicina encapsulada são estáveis em água a 4 °C e em pH fisiológico a 37 °C, o que indica que esses sistemas são promissores para atuar no carreamento do fármaco epirrubicina.

REFERÊNCIAS

- ABDAL-HAY, A.; BARTNIKOWSKI, M.; HAMLET, S. Electrospun biphasic tubular scaffold with enhanced mechanical properties for vascular tissue engineering. **Materials Science & Engineering C**, v. 82, p. 10–18, 2018.
- ABREU, C. M. W. S.; PAULA, H. C. B.; SEABRA, V.; FEITOSA, J. P. A.; SARMENTO, B.; DE PAULA, R. C. M. Synthesis and characterization of non-toxic and thermo-sensitive poly(N-isopropylacrylamide)-grafted cashew gum nanoparticles as a potential epirubicin delivery matrix. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 77–85, 2016.
- ALVES, S.; SANTOS, C.; DA COSTA, A. P.; SILVA, M.; BALEIZÃO, C.; FARINHA, J. P. S. Smart polymeric nanoparticles for boron scavenging. **Chemical Engineering Journal**, v. 319, p. 31–38, 2017.
- ANBINDER, P.; MACCHI, C.; AMALVY, J.; SOMOZA, A. Chitosan-graft-poly(*n*-butyl acrylate) copolymer: Synthesis and characterization of a natural/synthetic hybrid material. **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 86-94, 2016.
- ANDRADE, K. C. S.; DE CARVALHO, C. W. P.; TAKEITI, C. Y.; DE AZEREDO, H. M. C.; CORRÊA, J. S.; CALDAS, C. M. Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*): avaliação das modificações químicas e físicas por extrusão termoplástica. **Polímeros**, v. 23, p. 667-671, 2013.
- BADRAN, M. M.; ALOMRANI, A. H.; HARISA, G. I.; ASHOUR, A. E.; KUMAR, A.; YASSIN, A. E. Novel docetaxel chitosan-coated PLGA/PCL nanoparticles with magnified cytotoxicity and bioavailability. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1461–1468, 2018.
- BAHREYNI, A.; ALIBOLANDI, M.; RAMEZANI, M.; SADEGHI, A. S.; ABNOUS, K.; TAGHDISI, S. M. A novel MUC1 aptamer-modified PLGA-epirubicin-P β AE-antimir-21 nanocomplex platform for targeted co-delivery of anticancer agents *in vitro* and *in vivo*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 175, p. 231–238, 2019.
- BANDEIRA, C. T.; **Métodos de preparação da goma de cajueiro**. EMBRAPA: Fortaleza, 1991.
- BATISTA, P.; CASTRO, P. M.; MADUREIRA, A. R.; SARMENTO, B.; PINTADO, M. Recent insights in the use of nanocarriers for the oral delivery of bioactive proteins and peptides. **Peptides**, v. 101, p. 112–123, 2018.
- BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global Cancer Statistics 2018 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, p. 394–424, 2018.
- CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, p. 649-660, 2009.

CUNHA, P. L. R.; MACIEL, J. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 85–92, 2007.

DASH, T. K.; KONKIMALLA, V. B. Poly- ϵ -caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 158, p. 15–33, 2012.

DEBELE, T. A.; MEKURIA, S. L.; TSAI, H. C. Polysaccharide based nanogels in the drug delivery system: Application as the carrier of pharmaceutical agents. **Materials Science and Engineering C**, v. 68, p. 964–981, 2016.

DHANKA, M.; SHETTY, C.; SRIVASTAVA, R. Injectable methotrexate loaded polycaprolactone microspheres: Physicochemical characterization, biocompatibility, and hemocompatibility evaluation. **Materials Science and Engineering C**, v. 81, p. 542–550, 2017.

DIAS, S. F. L.; NOGUEIRA, S. S.; DOURADO, F. F.; GUIMARÃES, M. A.; PITOMBEIRA, N. A. O.; GOBBO, G. G.; PRIMO, F. L.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; TEDESCO, A. C.; NUNES, L. C. C.; LEITE, J. R. S. A.; SILVA, D. A. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 254–261, 2016.

DUFORT, S.; SANCEY, L.; COLL, J. Physico-chemical parameters that govern nanoparticles fate also dictate rules for their molecular evolution. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 179–189, 2012.

EATON, P.; QUARESMA, P.; SOARES, C.; NEVES, C.; DE ALMEIDA, M. P.; PEREIRA, E.; WEST, P. A direct comparison of experimental methods to measure dimensions of synthetic nanoparticles. **Ultramicroscopy**, v. 182, p. 179-190, 2017.

FAN, Z.; CHANG, Y.; CUI, C.; SUN, L.; WANG, D. H.; PAN, Z.; ZHANG, M. Near infrared fluorescent peptide nanoparticles for enhancing esophageal cancer therapeutic efficacy. **Nature Communications**, v. 9, p. 2605-2616, 2018.

FENG, H.; SUN, Y.; ZHANG, J.; DENG, L.; DONG, A. Influence of supramolecular layer-crosslinked structure on stability of dual pH-Responsive polymer nanoparticles for doxorubicin delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 45, p. 81–92, 2018.

GARCIA-VALDEZ, O.; CHAMPAGNE, P.; CUNNINGHAM, M. F. Graft modification of natural polysaccharides via reversible deactivation radical polymerization. **Progress in Polymer Science**, v. 76, p. 151-173, 2018.

GAVHANE, Y. N.; SHETE, A. S.; BHAGAT, A. K.; SHINDE, V. R.; BHONG, K. K.; KHAIRNAR, G. A.; YADAV, A. V. Solid tumors: facts , challenges and solutions. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, v. 2, p. 1–12, 2011.

GE, W.; GUO, Y.; ZHONG, H.; WANG, X.; SUN, R. Synthesis, characterization, and micellar behaviors of hydroxyethyl cellulose-graft-poly(lactide/ ϵ -caprolactone/p-dioxanone). **Cellulose**, v. 22, p. 2365–2374, 2015.

GU, C.; LE, V.; LANG, M.; LIU, J. Preparation of polysaccharide derivatives chitosan-graft-poly(ϵ -caprolactone) amphiphilic copolymer micelles for 5-fluorouracil drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 116, p. 745–750, 2014.

GUO, Y.; WANG, X.; SHEN, Z.; SHU, X.; SUN, R. Preparation of cellulose-graft-poly(ϵ -caprolactone) nanomicelles by homogeneous ROP in ionic liquid. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 77–83, 2013.

IGLESIAS, N.; GALBIS, E.; DÍAZ-BLANCO, M. J.; DE-PAZ, M. V.; GALBIS, J. A. Loading studies of the anticancer drug camptothecin into dual stimuli-sensitive nanoparticles. Stability scrutiny. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 550, p. 429–438, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores IBGE: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Estatística da Produção Agrícola**, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2018.

JEANNOT, V.; GAUCHE, C.; MAZZAFERRO, S.; COUVET, M.; VANWONTERGHEM, L.; HENRY, M.; DIDIER, C.; VOLLAIRE, J.; JOSSERAND, V.; COLL, J.; SCHATZ, C.; LECOMMANDOUX, S.; HURBIN, A. Anti-tumor efficacy of hyaluronan-based nanoparticles for the co-delivery of drugs in lung cancer. **Journal of Controlled Release**, v. 275, p. 117–128, 2018.

JOSEPH, E.; REDDI, S.; RINWA, V.; BALWANI, G.; SAHA, R. DoE based Olanzapine loaded poly-caprolactone nanoparticles decreases extrapyramidal effects in rodent model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 541, p. 198–205, 2018.

KALYANASUNDARAM, K.; THOMAS, J. K. Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of micellar systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, p. 2039–2044, 1977.

KAMARAJ, N.; RAJAGURU, P. Y.; ISSAC, P. K.; SUNDARESAN, S. Fabrication, characterization, *in vitro* drug release and glucose uptake activity of 14-deoxy, 11, 12-didehydroandrographolide loaded polycaprolactone nanoparticles. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, p. 353–362, 2017.

KHAN, T.; GURAV, P. PhytoNanotechnology: enhancing delivery of plant based anti-cancer drugs. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 1002-1016, 2018.

KHOSA, A.; REDDI, S.; SAHA, R. N. Nanostructured lipid carriers for site-specific drug delivery. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 598–613, 2018.

KRYLOV, S. N. Book review of probes and tags to study biomolecular function for proteins, RNA, and membranes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, p.1621–1622, 2009.

KUMAR, V.; ADAMSON, D. H.; PRUD'HOMME, R. K. Fluorescent polymeric nanoparticles: aggregation and phase behavior of pyrene and amphotericin B molecules in nanoparticle cores. **Small**, v. 6, p. 2907-2914, 2010.

LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: a review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 3484–3504, 2009.

LI, W.; HUO, M.; CHAUDHURI, A. S.; YANG, C.; CAO, D.; WU, Z.; QI, X. Self-assembled polyelectrolyte complexes films as efficient compression coating layers for controlled-releasing tablets. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 28, p. 67-79, 2017.

LIMA, M. R.; PAULA, H. C. B.; ABREU, F. O. M. S.; SILVA, R. B. C.; SOMBRA, F. M.; DE PAULA, R. C. M. Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin B encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 523–530, 2018.

LIU, J.; WILLFO, S.; XU, C. A review of bioactive plant polysaccharides: biological activities, functionalization, and biomedical applications. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, p. 31–61, 2015.

LIU, L.; MU, L.; YAN, Y.; WU, J.; HU, Y.; BU, Y.; ZHANG, J.; LIU, R.; LI, X.; LU, W. The use of functional epirubicin liposomes to induce programmed death in refractory breast cancer. **International Journal of Nanomedicine**, v.12, p. 4163-4176, 2017.

MALIKMAMMADOV, E.; TANIR, T. E.; KIZILTAY, A.; HASIRCI, V.; HASIRCI, N. PCL and PCL-based materials in biomedical applications. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 29, p. 863-893, 2018.

MALVIYA, R.; KUMAR, P.; KUMAR, S. Modification of polysaccharides: pharmaceutical and tissue engineering applications with commercial utility (patents). **Materials Science & Engineering C**, v. 68, p. 929–938, 2016.

MAZUMDER, S.; DEWANGAN, A. K.; PAVURALA, N. Enhanced dissolution of poorly soluble antiviral drugs from nanoparticles of cellulose acetate based solid dispersion matrices. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, p. 532–541, 2017.

MOURANETO, E.; MACIEL, J. S.; CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Preparation and characterization of a chemically sulfated cashew gum polysaccharide. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1953–1960, 2011.

OLIVEIRA, C. L.; VEIGA, F.; VARELA, C.; ROLEIRA, F.; TAVARES, E.; SILVEIRA, I.; RIBEIRO, A. J. Characterization of polymeric nanoparticles for intravenous delivery: focus on stability. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 150, p. 326–333, 2017.

- ORTIZ, J. A.; MATSUHIRO, B.; ZAPATA, P. A.; CORRALES, T.; CATALINA, F.; Preparation and characterization of maleoylagarose/PNIPAAm graft copolymers and formation of polyelectrolyte complexes with chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 182, p. 81–91, 2018.
- PALAO-SUAY, R.; GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; AGUILAR, M. R.; VÁZQUEZ-LASA, B.; ROMÁN, J. S. Self-assembling polymer systems for advanced treatment of cancer and inflammation. **Progress in Polymer Science**, v. 53, p. 207–248, 2016.
- PATRIZI, M. L.; PIANTANIDA, G.; COLUZZA, C.; MASCI, G. ATRP synthesis and association properties of temperature responsive dextran copolymers grafted with poly(N-isopropylacrylamide). **European Polymer Journal**, v. 45, p. 2779–2787, 2009.
- DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B. Polysaccharide based copolymers as supramolecular systems in biomedical applications. **Current Drug Targets**, v. 16, p. 1591-1605, 2015.
- DE PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. **Polymer International**, v. 45, p. 27-35, 1998.
- DE PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p.177-1881, 1995.
- PIAZZA, R. D.; BRANDT, J. V.; GOBO, G. G.; TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; MARQUES, R. F. C.; JUNIOR, M. J. mPEG-co-PCL nanoparticles: The influence of hydrophobic segment on methotrexate drug delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 555, p. 142–149, 2018.
- PISTONE, S.; GOYCOOLEA, F. M.; YOUNG, A.; SMISTAD, G.; HIORTH, M.; Formulation of polysaccharide-based nanoparticles for local administration into the oral cavity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 381–389, 2017.
- PITOMBEIRA, N. A. O.; NETO, J. G. V.; SILVA, D. A.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 610–615, 2015.
- PORTO, B. C.; AUGUSTO, P. E. D.; CRISTIANINI, M. A. Comparative study between technological properties of cashew tree gum and arabic gum. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 23, p. 392–399, 2015.
- QUINTEN, M. **Optical Properties of Nanoparticle Systems: Mie and Beyond**. Weinheim: Wiley, 2011.
- RIBEIRO, A. J.; SOUZA, F. R. L.; BEZERRA, J. M. N. A.; OLIVEIRA, C.; NADVORNY, D.; SOARES, M. F. L. R.; NUNES, L. C. C.; SILVA-FILHO, E. C.; VEIGA, F.; SOBRINHO, J. L. S. Gums' based delivery systems: review on cashew

gum and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 188–200, 2016.

RICHTER, A. R.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; GOYCOOLEA, F. M.; DE PAULA, R. C. M. Pickering emulsion stabilized by cashew gum-poly-L-lactide copolymer nanoparticles: Synthesis, characterization and amphotericin B encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 164, p. 201–209, 2018.

RODRIGUES, J. F.; DE PAULA, R. C. M.; COSTA, S. M. O. Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 3, p. 31-36, 1993.

SALDÍAS, C.; VELÁSQUEZ, L.; QUEZADA, C.; LEIVA, A. Physicochemical assessment of Dextran-g-Poly (ϵ -caprolactone) micellar nanoaggregates as drug nanocarriers. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 458–467, 2015.

SANTOS, L. P.; CAON, T.; BATTISTI, M. A.; SILVA, C. H. B.; SIMÕES, C. M. O.; REGINATTO, F. H.; CAMPOS, A. M. Antioxidant polymeric nanoparticles containing standardized extract of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. for topical use. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p.738–747, 2017.

SEKUŁA, M.; DOMALIK-PYZIK, P.; MORAWSKA-CHOCHÓŁ, A.; BOBIS-WOZOWICZ, S.; KARNAS, E.; NOGA, S.; BORUCZKOWSKI, D.; ADAMIAK, M.; MADEJA, Z.; CHŁOPEK, J.; ZUBA-SURMA, E. K. Polylactide- and polycaprolactone-based substrates enhance angiogenic potential of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells *in vitro* - implications for cardiovascular repair. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 521-533, 2017.

SHADY, S. F.; GAINES, P.; GARHWAL, R.; LEAHY, C.; ELLIS, E.; CRAWFORD, K.; SCHMIDT, D. F.; MCCARTHY, S. P. Synthesis and characterization of pullulan-polycaprolactone core-shell nanospheres encapsulated with ciprofloxacin. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 9, p. 1644–1655, 2013.

SILVA, D. A.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Graft copolymerisation of acrylamide onto cashew gum. **European Polymer Journal**, v. 43, p. 2620-2629, 2007.

SILVA, D. A.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; BRITO, A. C. F.; MACIEL, J. S.; PAULA, H. C. B. Carboxymethylation of cashew tree exudate polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 163–171, 2004.

SILVA, D. A.; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Polysaccharide-based nanoparticles formation by polyelectrolyte complexation of carboxymethylated cashew gum and chitosan. **Journal of Materials Science**, v. 45, p. 5605–5610, 2010.

SINHA, V. R.; BANSAL, K.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; TREHAN, A. Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres : an overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, p. 1–23, 2004.

SMITH, N.; WILLIAMS, J.; PLUCKNETT, D.; TALBOT, J. **Tropical forest and their crops**. Comstock, New York, 1992.

SONG, X.; JU, R.; XIAO, Y.; WANG, X.; LIU, S.; FU, M.; LIU, J.; GU, L.; LI, X.; CHENG, L. Application of multifunctional targeting epirubicin liposomes in the treatment of non-small-cell lung cancer. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 7433–7451, 2017.

STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Food polysaccharides and their applications, 2° ed., **CRC Press: Florida**, cap. 6, 2006.

STRIDSBERG, K. M.; RYNER, M.; ALBERTSSON, A. Controlled ring-opening polymerization: polymers with designed macromolecular architecture. **Degradable Aliphatic Polyesters**, v. 157, p. 41-65, 2002.

SUGIH, A. K.; PICCHIONI, F.; JANSSEN, L. P. B. M.; HEERES, H. J. polymerisation using silylated starch precursors. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 267–275, 2009.

SZOJKA, A.; LALH, K.; ANDREWS, S. H. J.; JOMHA, N. M.; OSSWALD, M.; ADESIDA, A. B. Bioprinting biomimetic 3D printed scaffolds for meniscus tissue engineering. **Bioprinting**, v. 8, p. 1–7, 2017.

TAMJIDI, F.; SHAHEDI, M.; VARSHOSAZ, J.; NASIRPOUR, A. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 19, p. 29–43, 2013.

TARIQ, M.; ALAM, A. M.; SINGH, A. T.; IQBAL, Z.; PANDA, A. K.; TALEGAONKAR, S. Biodegradable polymeric nanoparticles for oral delivery of epirubicin: In vitro, ex vivo, and in vivo investigations. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 128, p. 448-456, 2015.

TIWARI, A.; PRABAHARAN, M. An amphiphilic nanocarrier based on guar gum-graft-poly(ϵ - caprolactone) for potential drug-delivery applications. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 21, p. 937–949, 2010.

VÁSQUEZ MARCANO, R. G. D. J.; TOMINAGA, T. T.; KHALIL, N. M.; PEDROSO, L. S.; MAINARDES, R. M. Chitosan functionalized poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles for amphotericin B delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 345–354, 2018.

WOLINSKY, J. B.; COLSON, Y. L.; GRINSTAFF, M. W. Local drug delivery strategies for cancer treatment : Gels, nanoparticles, polymeric films, rods, and wafers. **Journal of Controlled Release**, v. 159, p. 14–26, 2012.

XU, R. Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. **Particuology**, v. 6, p. 112–115, 2008.

YANG, J.; HAN, S.; ZHENG, H.; DONG, H.; LIU, J. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 53–66, 2015.

YIN, H.; WANG, J.; GU, Z.; FENG, W.; GAO, M.; WU, Y.; ZHENG, H.; HE, X.; MO, X. Evaluation of the potential of kartogenin encapsulated poly(L-lactic acid-co-caprolactone)/collagen nanofibers for tracheal cartilage regeneration. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 32, p. 331–341, 2017.

ZHANG, X.; CHEN, M.; LIU, C.; ZHANG, A.; SUN, R. Homogeneous ring opening graft polymerization of ϵ -caprolactone onto xylan in dual polar aprotic solvents. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 701–709, 2015.

ZHANG, Y.; SUN, T.; JIANG, C. Biomacromolecules as carriers in drug delivery and tissue engineering. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8, p. 34–50, 2018.

ZHOU, S.; ZHANG, T.; PENG, B.; LUO, X.; LIU, X.; HU, L.; LIU, Y.; DI, D.; SONG, Y.; DENG, Y. Targeted delivery of epirubicin to tumor-associated macrophages by sialic acid-cholesterol conjugate modified liposomes with improved antitumor activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, p. 203-216, 2017.