



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

RAELLE FERREIRA GOMES

**NANOPARTÍCULAS pH-RESPONSIVAS DE GOMA DO CAJUEIRO PARA
TERAPIA COMBINADA CONTRA O CÂNCER**

FORTALEZA

2026

RAELLE FERREIRA GOMES

NANOPARTÍCULAS pH-RESPONSIVAS DE GOMA DO CAJUEIRO PARA TERAPIA
COMBINADA CONTRA O CÂNCER

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.
Área de concentração: Química

Orientadora: Prof^ª. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula.

FORTALEZA

2026

RAELLE FERREIRA GOMES

NANOPARTÍCULAS pH-RESPONSIVAS DE GOMA DO CAJUEIRO PARA TERAPIA
COMBINADA CONTRA O CÂNCER

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.
Área de concentração: Química

Orientadora: Prof^ª. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula.

Aprovada em 12/01/2026

BANCA EXAMINADORA

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

Prof.^a Dra. Jeanny da Silva Maciel
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Prof. Dr. Francisco Audísio Dias Filho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. André Ricardo Fajardo
Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

À minha família, por todo amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP).

Aos órgãos CNPq, CAPES, FUNCAP e INCT-POLISSACARÍDEOS pelo auxílio financeiro a pesquisa.

A minha família, por todo amor, educação, cuidado, incentivo e suporte para enfrentar todos os obstáculos.

A minha orientadora Profa. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula pela oportunidade, orientação, confiança e suporte dado durante toda a pesquisa. Agradeço em especial pela disponibilidade, atenção e gentileza nos momentos delicados.

A aluna de iniciação científica Ayla Ventorini pela ajuda e suporte no desenvolvimento deste trabalho.

A Dra. Maria Magalhães e ao Dr. Irisvan Ribeiro pela amizade, parceria e ajuda na realização deste trabalho.

A Dra. Vanessa Canafistula, Dr. Ribamar Júnior e ao Dr. Carlos Rhamon pela amizade, carinho, atenção e ajuda.

Ao Me. Lucas Amorim, Dra. Laís Ramos e Clívia Gomes pelo carinho, amizade, atenção e momentos de lazer.

As professoras, alunos e técnicos que compõem o grupo do Laboratório de Polímeros pelos momentos de descontração, discussões científicas e ajuda de forma direta ou indireta.

A Central Analítica da Química-UFC e a técnica Ma. Nádia Pitombeira pela disponibilidade e disposição dos equipamentos para análises de espectroscopia de infravermelho, cromatografia líquida e fluorescência.

Ao CENAUREM-UFC e aos operadores Dr. Venícios Sombra e Dr. Matheus Xavier pela disponibilidade e análises de ressonância magnética nuclear.

Ao Laboratório de Microscopia Avançada-UFC e ao Prof. Dr. Jeanlex Soares e os alunos Me. Erick Torres e Guilherme Goersch pela disponibilidade e análises de microscopia de força atômica.

Ao Laboratório de Investigação do Câncer e Inflamação-UFRN e ao Prof. Dr. Raimundo Júnior e as alunas Ma. Andreza Aguiar e Natália Vilar pela parceria e colaboração na realização do trabalho com as análises *in vitro* em células cancerosas e não cancerosas.

Ao Laboratório de Bioinorgânica-UFC e ao Dr. Wellinson Gadêlha pela disponibilidade e uso dos equipamentos.

Aos professores Dra. Judith Feitosa, Dr. Luiz Gonzaga e Dr. Tiago Sampaio pelas contribuições ao trabalho durante o exame de qualificação. E aos professores que participaram da defesa da tese.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e a toda equipe do Programa de Pós-Graduação em Química.

“Viver não cabe no Lattes.”

(autor desconhecido)

RESUMO

O câncer é um grave problema relacionado à saúde pública no mundo e a quimioterapia é considerada a abordagem de primeira linha no tratamento dessa doença. No entanto, a efetividade terapêutica é limitada devido aos eventos adversos e à baixa biodisponibilidade associada aos agentes quimioterápicos. A combinação de dois ou mais agentes terapêuticos representa uma estratégia importante para potencializar os efeitos anticâncer por meio de ações sinérgicas e acúmulo simultâneo no microambiente tumoral. Os nanocarreadores baseados em pró-fármacos pH-responsivos à de polissacarídeo se mostram promissores como sistemas de coentrega na terapia contra o câncer. A fim de demonstrar tal afirmação, neste trabalho, a goma do cajueiro carboximetilada (GCCM) foi conjugada com sucesso com a curcumina (CUR), formando um pró-fármaco ácido-sensível (GCCM-CUR). O paclitaxel (PTX) e o resiquimod (R848) foram então encapsulados em nanopartículas de GCCM-CUR (GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) por meio de interações não covalentes. Essas nanopartículas foram projetadas para promover a coentrega de fármacos ao microambiente tumoral. As estruturas dos pró-fármacos foram confirmadas por espectroscopia na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio. A auto-organização em nanopartículas foi observada por espectroscopia de fluorescência, espalhamento dinâmico de luz e microscopia de força atômica, indicando boa dispersão e diâmetros inferiores a 200 nm. Os valores de carga do fármaco para CUR nas nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foram de 7,0%, 3,0% e 2,0%, respectivamente. As nanopartículas promoveram a proteção da CUR contra processos de degradação e exibiram perfil de liberação controlada e responsiva ao pH. Além disso, as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX exibiram atividade *in vitro* contra as células CT-26 (carcinoma colorretal murino) e citotoxicidade reduzida em células não tumorais (RAW 264.7, macrófagos murinos), tendo um maior efeito observado na coadministração de CUR/PTX do que o fármaco livre. Por outro lado, a nanopartícula GCCM-CUR/R848 não apresentou citotoxicidade em células CT-26, mas induziu efeito proliferativo em células imunes RAW 264.7. O estudo de captação celular confirmou que as nanopartículas com CUR/PTX foram absorvidas pelas células CT-26, enquanto as contendo CUR/R848 foram absorvidas pelas células RAW 264.7. As nanopartículas responsivas ao pH à base de polissacarídeo se mostraram promissoras para a coentrega seletiva e controlada de fármacos ao microambiente tumoral, com potencial aplicação em terapias combinadas contra o câncer.

Palavras-chave: câncer; coterapia; pró-fármaco; goma do cajueiro carboximetilada.

ABSTRACT

Cancer is a serious public health problem worldwide, and chemotherapy is considered the first-line approach in treating this disease. However, therapeutic effectiveness is limited by adverse events and the low bioavailability associated with chemotherapeutic agents. Combining two or more therapeutic agents represents an important strategy to enhance anticancer effects through synergistic actions and simultaneous accumulation in the tumor microenvironment. Polysaccharide-based pH-responsive prodrug nanocarriers show promise as co-delivery systems in cancer therapy. To demonstrate this, in this study, carboxymethyl cashew gum (CMCG) was successfully conjugated with curcumin (CUR) to form an acid-sensitive prodrug (CMCG-CUR). Paclitaxel (PTX) and resiquimod (R848) were then encapsulated in CMCG-CUR nanoparticles (CMCG-CUR/PTX and CMCG-CUR/R848) through non-covalent interactions. These nanoparticles were designed to promote the co-delivery of drugs to the tumor microenvironment. The structures of the prodrugs were confirmed by infrared spectroscopy and hydrogen nuclear magnetic resonance. Self-assembly into nanoparticles was observed using fluorescence spectroscopy, dynamic light scattering, and atomic force microscopy, indicating good dispersion and diameters below 200 nm. The drug loading values for CUR in the CMCG-CUR, CMCG-CUR/PTX, and CMCG-CUR/R848 nanoparticles were 7.0%, 3.0%, and 2.0%, respectively. The nanoparticles protected CUR from degradation and exhibited a controlled pH-responsive release profile. Furthermore, the CMCG-CUR and CMCG-CUR/PTX nanoparticles showed *in vitro* activity against CT-26 cells (murine colorectal carcinoma) and reduced cytotoxicity in non-tumor cells (RAW 264.7, murine macrophages), with a greater effect observed in the co-administration of CUR/PTX than the free drug. On the other hand, the CMCG-CUR/R848 nanoparticle showed no cytotoxicity in CT-26 cells but induced a proliferative effect in RAW 264.7 immune cells. The cell uptake study confirmed that the nanoparticles with CUR/PTX were absorbed by CT-26 cells, while those containing CUR/R848 were absorbed by RAW 264.7 cells. pH-responsive polysaccharide-based nanoparticles have shown promise for the selective and controlled co-delivery of drugs to the tumor microenvironment, with potential application in combination cancer therapies.

Keywords: cancer; co-therapy; prodrug; carboxymethylated cashew gum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Progressão do câncer e metástase	19
Figura 2	– Fonte de obtenção (A) e estrutura química (B) da curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina	23
Figura 3	– Fonte de obtenção do paclitaxel (A) e estrutura química (B) da 10-desacetilbacatina III e do paclitaxel	25
Figura 4	– Estrutura química do imiquimod e resiquimod	26
Figura 5	– Estímulos de ativação (A), processo de formação (B) do pró-fármaco e ligações sensíveis a estímulos (C)	29
Figura 6	– Fonte de obtenção e estrutura química de alguns polissacarídeos	31
Figura 7	– Fonte de obtenção (A), estrutura química dos monossacarídeos presentes (B) e proposta de representação estrutural de um segmento da goma do cajueiro (R representa ramnose ou arabinose) (C)	36
Figura 8	– Representação esquemática da reação de carboximetilação	37
Figura 9	– Representação esquemática do mecanismo da reação de esterificação via química de carbodiimida/DMAP entre um ácido carboxílico e um álcool. Anidrido misto (A), intermediário (B), nucleófilo alcoólico (C) e equivalente da ureia (D)	38
Figura 10	– Fluxograma metodológico do trabalho	41
Figura 11	– Representação esquemática do isolamento da goma do cajueiro	42
Figura 12	– Representação esquemática (A) e mecanismo (B) da reação de carboximetilação	43
Figura 13	– Representação esquemática da determinação do teor de grupos ácido	44
Figura 14	– Representação esquemática da síntese (A) e mecanismo da reação de formação (B) do pró-fármaco GCCM-CUR	45
Figura 15	– Representação esquemática do encapsulamento do PTX e do R848 pela auto-organização do pró-fármaco GCCM-CUR em meio aquoso	46
Figura 16	– Representação esquemática do ensaio de estabilidade química da curcumina	50
Figura 17	– Representação esquemática dos ensaios de liberação <i>in vitro</i> dos fármacos das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848	51
Figura 18	– Representação esquemática dos ensaios de viabilidade celular	53

Figura 19	– Representação esquemática dos ensaios de captação celular das nanopartículas GCCM-CUR/PTX pelas células CT-26 e das GCCM-CUR/R848 pelas células RAW 264.7	54
Figura 20	– Cromatogramas de distribuição de massa molar por SEC para GC e GCCM	56
Figura 21	– Representação dos produtos da β -eliminação para um oligossacarídeo do ácido galacturônico	57
Figura 22	– Espectros de absorção de FT-IR para a GC e GCCM na forma ácida na faixa de frequência de 4000-400 cm^{-1}	58
Figura 23	– Espectros de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6 , 70 $^\circ\text{C}$) para a GC e GCCM .	59
Figura 24	– Representação esquemática da síntese dos pró-fármacos	60
Figura 25	– Espectros de absorção de FT-IR para os fármacos (CUR, PTX e R848) (A) e para a GCCM e os pró-fármacos (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) (B) na faixa de frequência de 4000-400 cm^{-1}	63
Figura 26	– Espectros de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) para os fármacos (CUR, PTX e R848) a 25 $^\circ\text{C}$ (A) e estrutura química dos fármacos com os prótons sinalizados (B)	64
Figura 27	– Espectros de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) para a GCCM e os pró-fármacos (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) a 70 $^\circ\text{C}$.	65
Figura 28	– Variação da razão I_{338}/I_{334} do pireno em função do logaritmo da concentração (25 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dos pró-fármacos GCCM-CUR (A), GCCM-CUR/PTX (B) e GCCM-CUR/R848 (C) a 25 $^\circ\text{C}$	67
Figura 29	– Distribuição de tamanho das nanopartículas de pró-fármacos GCCM-CUR (A), GCCM-CUR/PTX (B) e GCCM-CUR/R848 (C) em água obtidas por DLS	69
Figura 30	– Imagens de microscopia de força atômica de altura (em laranja) e de amplitude (em cinza) das nanopartículas GCCM-CUR (A), GCCM-CUR/PTX (B) e GCCM-CUR/R848 (C)	70
Figura 31	– Estrutura química dos produtos de degradação oxidativa e hidrolítica da curcumina	71
Figura 32	– Estabilidade química da curcumina livre (A) e conjugada nas nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 (B) em PBS pH 5,0 e 7,4 a 37 $^\circ\text{C}$	72

Figura 33	– Perfil de liberação in vitro da CUR das nanopartículas GCCM-CUR (A) e GCCM-CUR/PTX (B), do PTX da nanopartícula GCCM-CUR/PTX (C) e da CUR e R848 da nanopartícula GCCM-CUR/R848 (D) em PBS pH 5,0 e 7,4 contendo 0,1% LSS a 37 °C. Ilustração esquemática da hidrólise da ligação éster formada entre o grupo -COOH da GCCM e o grupo -OH da CUR (E)	74
Figura 34	– Representação do comportamento das nanopartículas de pró-fármacos em PBS pH 5,0 e 7,4	79
Figura 35	– Efeito dos tratamentos na proliferação celular das linhagens CT-26 e RAW 264.7 em diferentes concentrações das amostras e nos tempos de 24 h (A) e 48 h (B). O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle negativo (DMEM) (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 ou ****p < 0,0001)	80
Figura 36	– Intensidade de fluorescência das nanopartículas no ensaio de captação celular na linhagem cancerosa CT-26. Comparação entre o controle negativo (DMEM) e as nanopartículas em cada tempo (A). Internalização das nanopartículas (vermelhas) nas células CT-26 após 4, 24 e 48 h de incubação (B). Membrana celular (verde) e núcleo (azul). Ampliação: 40×. O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 ou ****p < 0,0001). NS (não significativo)	82
Figura 37	– Efeito dos tratamentos na proliferação celular das linhagens CT-26 e RAW 264.7 em diferentes concentrações das amostras e nos tempos de 24 h (A), 48 h (B) e 72 h (C). O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle negativo (DMEM) (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 ou ****p < 0,0001)	84
Figura 38	– Intensidade de fluorescência das nanopartículas no ensaio de captação celular em células imunes RAW 264.7. Comparação entre o controle negativo (DMEM) e as nanopartículas em cada tempo (A). Internalização das nanopartículas (vermelhas) pelas células RAW 264.7 após 24, 48 e 72 h de incubação (B). Núcleo (azul). Ampliação: 40×. O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 ou ****p < 0,0001). NS (não significativo)	86

Figura 39 – Dados obtidos para as nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 (A) e efeito EPR e comportamento das nanopartículas no microambiente tumoral (B) 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Exemplos de nanopartículas de pró-fármacos pH-responsivos à base de polissacarídeos com foco na terapia direcionada do câncer	32
Tabela 2	– Valores de rendimento de isolamento e da reação de carboximetilação (Rend), teor de grupos ácido, massa molar de pico (M_{pk}), massa molar ponderal média (M_w), massa molar numérica média (M_n) e dispersão (\mathcal{D}) para a GC e GCCM	55
Tabela 3	– Dados de rendimento reacional (Rend), eficiência de fármaco carregado (EFC) e carga de fármaco (CF) para os pró-fármacos	60
Tabela 4	– Dados de tamanho de partícula por DLS e AFM, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta ($P\zeta$) para a GCCM e as nanopartículas de pró-fármacos (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) e concentração de agregação crítica (CAC) para os pró-fármacos. D.P. (desvio padrão)	69
Tabela 5	– Percentual de liberação da CUR, PTX e R848 das nanopartículas após 10 e 72 h de experimento	73
Tabela 6	– Parâmetros cinéticos para a liberação de CUR, PTX e R848 das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848	76
Tabela 7	– Valores dos coeficientes de determinação (R^2) obtidos a partir de equações dos modelos cinéticos para liberação da CUR das nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	Microscopia de força atômica
ANOVA	Análise de variância
CAC	Concentração de agregação crítica
CDDP	Cisplatina
CF	Carga de fármaco
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CT-26	Carcinoma colorretal murino
CUR	Curcumina
Đ	Dispersão
D.P.	Desvio padrão
DCC	N,N'-Diciclohexilcadiimida
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMEM	Meio Eagle Modificado de Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d6	Dimetilsulfóxido deuterado
DOX	Doxorrubicina
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EFC	Eficiência de fármaco carregado
EPR	Efeito de permeabilidade e retenção aprimorada
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FT-IR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier
GCCM	Goma do cajueiro carboximetilada
GCCM-CUR	Goma do cajueiro carboximetilada-curcumina
GCCM-CUR/PTX	Goma do cajueiro carboximetilada-curcumina/paclitaxel
GCCM-CUR/R848	Goma do cajueiro carboximetilada-curcumina/resiquimod
GCCM-H ⁺	Goma do cajueiro carboximetilada protonada
IPD	Índice de polidispersão
LSS	Lauril sulfato de sódio
M _n	Massa molar numérica média

M _{pk}	Massa molar de pico
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
M _w	Massa molar ponderal média
PBS	Tampão fosfato
PTX	Paclitaxel
P ζ	Potencial zeta
R848	Resiquimod
RAW 264.7	Macrófagos murinos
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
SEC	Cromatografia de exclusão por tamanho
S _N 2	Substituição nucleofílica bimolecular
TLR	Receptor <i>toll-like</i>
UV-vis	Espectroscopia na região do ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Câncer	19
1.2	Agentes terapêuticos	22
1.2.1	<i>Curcumina</i>	22
1.2.2	<i>Paclitaxel</i>	24
1.2.3	<i>Resiquimod</i>	26
1.3	Pró-fármacos	27
1.4	Polissacarídeos	30
1.4.1	<i>Goma do cajueiro</i>	35
1.5	Carboximetilação	37
1.6	Esterificação	38
2	OBJETIVOS	40
2.1	Objetivo geral	40
2.2	Objetivos específicos	40
3	METODOLOGIA	41
3.1	Etapas do desenvolvimento do trabalho	41
3.2	Materiais	42
3.3	Isolamento da goma do cajueiro	42
3.4	Reação de carboximetilação da goma do cajueiro	43
3.4.1	<i>Determinação do teor de grupos ácido na goma do cajueiro e na goma do cajueiro carboximetilada</i>	43
3.5	Síntese do pró-fármaco de goma do cajueiro carboximetilada com curcumina (GCCM-CUR) via química de carbodiimina	44
3.5.1	<i>Encapsulamento do fármaco paclitaxel e resiquimod pela auto-organização do pró-fármaco GCCM-CUR</i>	45
3.5.2	<i>Eficiência de fármaco carregado (EFC) e carga de fármaco (CF)</i>	46
3.6	Técnicas de caracterização	47
3.6.1	<i>Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)</i>	47
3.6.2	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)</i>	48
3.6.3	<i>Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)</i>	48
3.6.4	<i>Concentração de agregação crítica (CAC)</i>	48

3.6.5	<i>Espalhamento de luz dinâmico (DLS)</i>	49
3.6.6	<i>Microscopia de força atômica (AFM)</i>	49
3.7	Estabilidade química da curcumina nas nanopartículas	49
3.8	Ensaio de liberação <i>in vitro</i> dos fármacos	50
3.8.1	<i>Mecanismo de liberação dos fármacos</i>	51
3.9	Ensaio celular <i>in vitro</i>	52
3.9.1	<i>Cultivo celular</i>	52
3.9.2	<i>Ensaio de viabilidade celular</i>	52
3.9.3	<i>Ensaio de captação celular (Uptake)</i>	53
3.9.4	<i>Análises estatísticas</i>	54
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1	Síntese e caracterização da GC e GCCM	55
4.1.1	<i>Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)</i>	55
4.1.2	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)</i>	58
4.1.3	<i>Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)</i>	59
4.2	Síntese e caracterização dos pró-fármacos	59
4.2.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)</i>	61
4.2.2	<i>Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)</i>	64
4.2.3	<i>Concentração de agregação crítica (CAC)</i>	66
4.2.4	<i>Espalhamento de luz dinâmico (DLS)</i>	68
4.2.5	<i>Microscopia de força atômica (AFM)</i>	69
4.2.6	<i>Estabilidade química da curcumina livre e nas nanopartículas</i>	71
4.2.7	<i>Estudo de liberação <i>in vitro</i> dos fármacos</i>	73
4.3	Ensaio celular <i>in vitro</i> com as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX	79
4.3.1	<i>Ensaio de viabilidade celular</i>	80
4.3.2	<i>Ensaio de captação celular</i>	81
4.4	Ensaio celular <i>in vitro</i> com as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/R848	83
4.4.1	<i>Ensaio de viabilidade celular</i>	83
4.4.2	<i>Ensaio de captação celular</i>	85
4.5	Análise comparativa entre as nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848	86

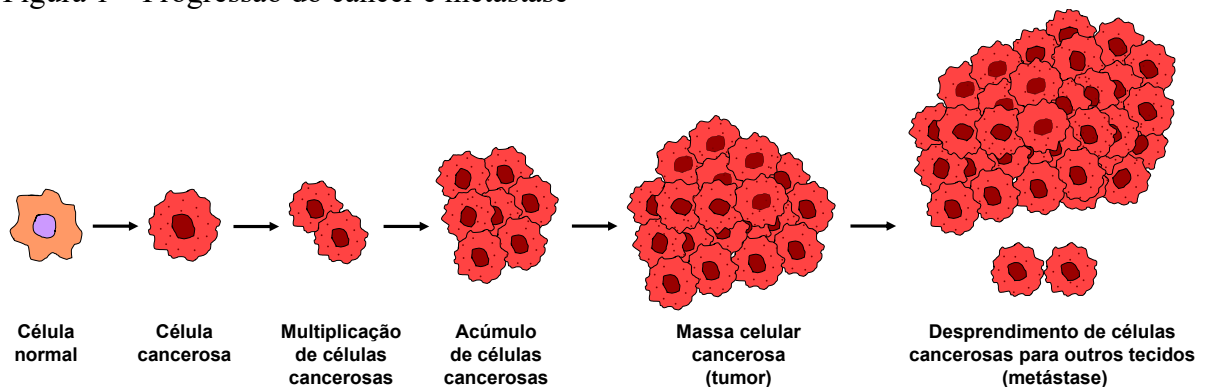
5	CONCLUSÃO	89
	REFERÊNCIAS	90
	APÊNDICE A – PLANILHA EXCEL DOS CÁLCULOS POR APROXIMAÇÕES SUCESSIVAS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GRUPOS ÁCIDO NA GC (A) E GCCM (B)	106
	APÊNDICE B – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DA CURCUMINA EM DMSO POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS (A) E EM PBS POR FLUORESCÊNCIA (B E C) E DO PACLITAXEL POR CLAE (D)	107
	APÊNDICE C – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DO RESIQUIMOD EM DMSO (A) E EM PBS POR ESPECTROSCOPIA UV-VISÍVEL (B E C)	108

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, sendo considerado na maioria dos países a segunda doença que mais causa mortes (OPAS, 2023). Esta doença é caracterizada pelo crescimento e espalhamento desordenado de células anormais e esse comportamento é atribuído a perda de equilíbrio entre a proliferação e a morte celular (Ma *et al.*, 2025). Quando ocorre a ausência dos sinais apoptóticos nas células, acontece a proliferação celular descontrolada que se acumulam para formar tumores sólidos e que são capazes de invadir tecidos e órgãos adjacentes e metastatizar para locais distantes (Figura 1). A metástase é a principal responsável pelas mortes relacionadas ao câncer (Han *et al.*, 2023).

Figura 1 – Progressão do câncer e metástase



Fonte: Block *et al.* (2015, com adaptações).

Fatores endógenos, como hereditariedade, defeitos no sistema imune, predisposição genética e fatores exógenos, como substâncias químicas e radiação são fatores cruciais para o desenvolvimento do câncer (Kamal *et al.*, 2022).

Globalmente, mais de 19,9 milhões de novos casos de câncer foram diagnosticados, ocasionando cerca de 9,7 milhões de mortes em todo o mundo em 2022 (GLOBOCAN, 2022). Dentre os diferentes tipos de cânceres, o de pulmão foi o mais comumente diagnosticado em todo o mundo com 2,48 milhões de casos (12,4%), seguido dos cânceres de mama (2,29 milhões, 11,5%) e de colorretal (1,9 milhão, 9,6%). Em relação as causas de morte, o câncer de pulmão foi a principal causa de óbitos com 1,81 milhão de mortes (18,7%), seguido dos cânceres de colorretal (904 mil, 9,3%) e fígado (758 mil, 7,8%). Em relação ao sexo, os cânceres mais detectados em homens foram o de pulmão (15,2%), próstata (14,2%) e colorretal (10,4%),

enquanto em mulheres foram os cânceres de mama (23,8%), pulmão (9,4%) e colorretal (8,9%) (GLOBOCAN, 2022; Bray *et al.*, 2024).

No Brasil, entre os anos de 2023-2025, é estimada a ocorrência de 483 mil novos casos para cada ano, sendo 49,5% em homens (239 mil novos casos) e 50,5% (244 mil novos casos) em mulheres. Ao incluir o câncer de pele não melanoma, estima-se a ocorrência de cerca de 700 mil novos casos (Santos *et al.*, 2023). Os cânceres mais incidentes com aproximadamente 15,0% dos novos casos cada um, são o de mama feminino e próstata, seguido dos cânceres de cólon e reto (9,4%), traqueia, brônquio e pulmão (6,7%), estômago (4,4%) e colo do útero (3,5%) (INCA, 2022; Santos *et al.*, 2023).

As terapias comumente utilizadas para o tratamento do câncer, incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia e imunoterapia. Entre estes, a quimioterapia é considerada a abordagem de primeira linha no tratamento da doença. No entanto, os quimioterápicos, como doxorrubicina (DOX), 5-fluorouracil (5-FU) e paclitaxel (PTX) muitas vezes não conseguem alcançar a remissão completa do câncer, por terem como alvo células que se multiplicam rapidamente, o que leva a falta de seletividade entre células cancerosas e não cancerosas (Yadav *et al.*, 2022; Anand *et al.*, 2023). Além do mais, os quimioterápicos são rapidamente eliminados do corpo através de processos renais ou outros processos metabólicos, sendo necessária a administração de repetidas doses, o que acaba causando toxicidade indesejável, como cardiotoxicidade, toxicidade gastrointestinal e toxicidade do folículo capilar (Wadhawan *et al.*, 2019; Yadav *et al.*, 2022).

As terapias combinadas para o tratamento do câncer estão crescendo em popularidade e são reconhecidas como essenciais para superar as limitações das monoterapias. Essas terapias combinam dois ou mais fármacos para aumentar seus efeitos anticâncer, reduzir os efeitos colaterais e prevenir o desenvolvimento de resistência aos medicamentos (Afshari *et al.*, 2023; Ghazal *et al.*, 2024). Entre as terapias combinadas, têm-se as de agentes quimioterápicos, quimio/gene terapia e quimio/imunoterapia (Wu *et al.*, 2023b).

Estima-se que a combinação de quimioterapia ou imunoterapia com tratamentos baseados em fitoquímicos possa melhorar a eficácia da terapia e reduzir a gravidade dos efeitos colaterais (Afshari *et al.*, 2023; Kawish *et al.*, 2024). A curcumina (CUR), um fitoquímico polifenólico com uma diversidade de benefícios à saúde, incluindo efeitos antitumorais, têm apresentado uma gama mais ampla de ação anticâncer e um risco menor de efeitos colaterais graves em combinação com quimioterápicos do que o fármaco isolado, uma vez que atua em inúmeras vias de sinalização de proliferação celular intensamente associadas à progressão do câncer (Cacciola *et al.*, 2023; Amaroli *et al.*, 2024). A coadministração de CUR e fármacos

quimioterápicos para terapia do câncer tem apresentado aumento na eficácia terapêutica ao mesmo tempo em que reduz os eventos adversos. Por exemplo, Liu *et al.* (2023a) relataram que a CUR aumentou a eficácia anticâncer do PTX, levando a melhores resultados no tratamento do câncer de ovário. A coadministração de DOX e CUR por interação hidrofóbica em sistemas de administração de fármaco ocasionaram maior citotoxicidade em células cancerosas do que a administração somente de DOX (Carneiro *et al.*, 2025).

A imunoterapia, fundamentada na estimulação do próprio sistema imunológico do paciente para reconhecer e combater células tumorais, tem apresentado eficácia prolongada em relação às abordagens de tratamento convencionais (Mathew *et al.*, 2023). A imunoterapia visa restaurar a atividade antitumoral do sistema imunológico, estimulando-o a identificar e eliminar células anormais por mecanismos naturais. Essa estratégia proporciona maior eficácia no combate ao câncer, com menor incidência de eventos adversos (Yan; Ding, 2020). No entanto, assim como as demais monoterapias, a imunoterapia também apresenta limitações. Um dos principais desafios é a resistência à imunoterapia, onde os tumores inicialmente sensíveis ao tratamento desenvolvem mecanismos para escapar da detecção imunológica por vias regulatórias que suprimem as respostas imunes (Tufail; Jiang; Li, 2025).

A quimio/imunoterapia, que combina fármacos quimioterápicos com imunoterápicos, tem se mostrado uma abordagem eficaz para o tratamento do câncer. Essa abordagem visa aumentar a eficácia do tratamento, atingindo simultaneamente as células cancerosas por meio da quimioterapia e fortalecendo o sistema imunológico para combater a doença por meio da imunoterapia (Sordo-Bahamonde *et al.*, 2023). A combinação de imunoterapia com quimioterapia tem apresentado resultados promissores. Por exemplo, Zhang *et al.* (2021) relataram que a coadministração de DOX, cisplatina (CDDP) e resiquimod (R848) em modelo murino de osteossarcoma promoveram a supressão de tumores e estimulação da resposta imune. Yin e Qian (2022) reportaram que a coadministração de CDDP e R848 inibiram o crescimento de células de adenocarcinoma ovariano humano e induziram apoptose, com um forte efeito sinérgico anticâncer. A coadministração de gemcitabina e R848 induziu apoptose de células cancerosas seguida de ativação imunológica (Ahmed *et al.*, 2025).

A ativação de células do sistema imunológico, mediada por receptores de reconhecimento de padrões, os *Toll-like* (TLR), desempenha um papel fundamental na imunidade antitumoral (Widmer *et al.*, 2018). Os TLRs desencadeiam a resposta imune ao reconhecer tanto padrões moleculares associados a patógenos quanto padrões endógenos liberados por células sob estresse ou em processo de morte (Pilch *et al.*, 2018). Agonistas de receptores TLR-7 e TLR-8 têm despertado grande interesse na pesquisa sobre o câncer por sua

capacidade de modificarem o microambiente tumoral imunológico de um estado promotor para inibidor do crescimento tumoral, alterando o fenótipo dos macrófagos infiltrantes de predominantemente M2 (favorecem o crescimento tumoral) para M1 (suprimem o crescimento tumoral) (Liu *et al.*, 2018). Resiquimod (R848) é um agonista sintético de receptores TLR-7 e TLR-8 que ativa células imunes por meio da via de sinalização dependente do fator de diferenciação mieloide 88 (MyD88, proteína adaptadora intracelular) promovendo a produção de citocinas pró-inflamatórias e potencializando células dendríticas e macrófagos (Thauvin *et al.*, 2019; Jia *et al.*, 2023).

A atividade anticancerígena do R848 pode aumentar significativamente quando utilizado em combinação com outros fármacos (Tambunlertchai; Geary; Salem, 2022). Sendo assim, a imunoterapia em combinação com a CUR, considerada uma molécula com potencial anticancerígeno, se mostra promissora para melhorar a resposta terapêutica em relação a monoterapia, uma vez que a CUR apresenta capacidade de modular o microambiente tumoral e as células do sistema imune, atuando na regulação de vias bioquímicas importantes (Mishra *et al.*, 2023; Parker *et al.*, 2025). No entanto, faltam pesquisas envolvendo a coadministração da curcumina com o resiquimod.

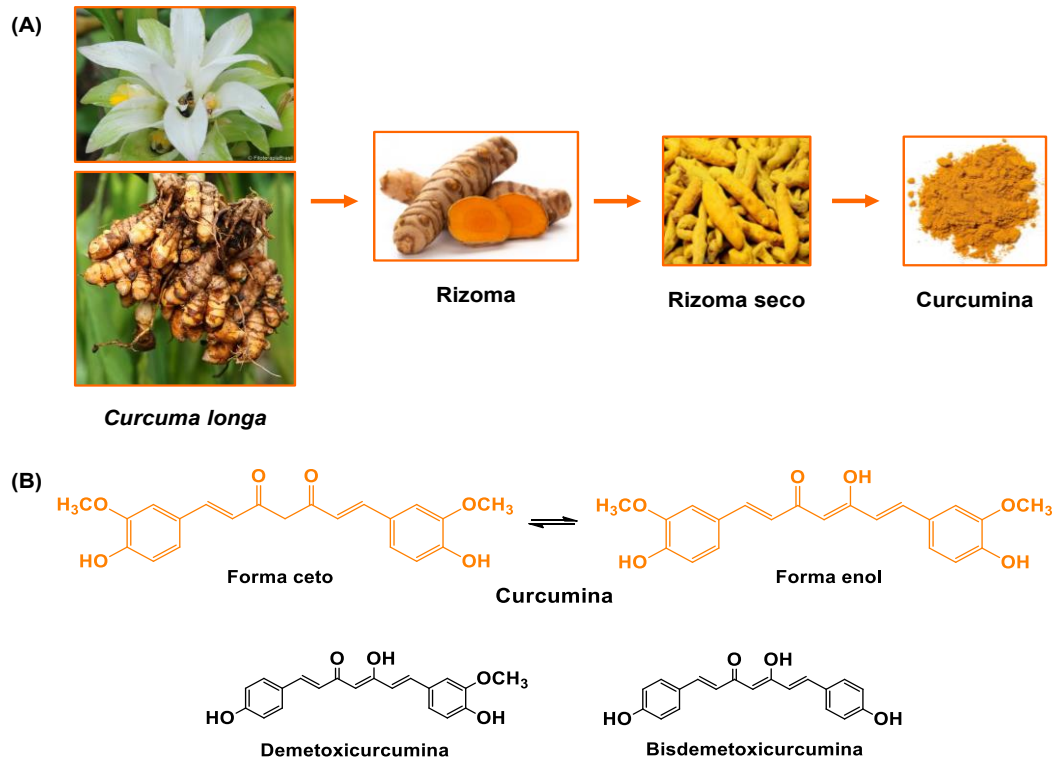
1.2 Agentes terapêuticos

1.2.1 Curcumina

A curcumina (CUR) é um composto polifenólico natural de cor amarelo-alaranjado isolada dos rizomas da cúrcuma (*Curcuma longa*), uma pequena planta herbácea perene pertencente à família *Zingiberaceae* (gingibre), descoberta em 1815 (Figura 2A) (Vogel; Pelletier, 1815). A cúrcuma contém uma classe de compostos conhecidos como curcuminóides, sendo a curcumina (77%) a mais abundante, seguida pela demetoxicurcumina (18%) e bisdemetoxicurcumina (5%) (Figura 2B) (Rodrigues; Kumar; Thakur, 2019).

A curcumina apresenta em sua estrutura química dois anéis fenil substituídos nas posições orto e meta por grupos hidroxila e metoxila conectados por meio de um ligante cetoenol de sete carbonos e é denominado de (1E,6E)-1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona (Figura 2B). A forma ceto existe em meios ácido ou neutro e a forma enol em condições alcalinas, sendo a forma enólica a mais estável devido à presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular (Milobedzka *et al.*, 1910; Agrawal; Jaiswal, 2022; Józsa *et al.*, 2022).

Figura 2 – Fonte de obtenção (A) e estrutura química (B) da curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina



Fonte: Goel; Kunnumakkara; Aggarwal (2008, com adaptações).

A primeira atividade farmacológica da curcumina foi descoberta em 1949, sendo o efeito antibacteriano (Schraufstatter; Bernt, 1949). A partir de 1970 outras atividades da curcumina foram exploradas, tais como: antidiabética (Srinivasan, 1972), anti-inflamatória (Srimal; Dhawan, 1973), antioxidante (Sharma, 1976), anticancerígena (Kuttan *et al.*, 1985), entre outras.

Devido ao seu amplo potencial como agente terapêutico, tem havido um interesse crescente da utilização de curcumina para o tratamento do câncer. A CUR exibe propriedades anticâncer por meio de sua capacidade de impedir a carcinogênese, angiogênese e progressão de tumores, além de impedir a proliferação celular, induzir apoptose e causar parada do ciclo celular G2/M (Kawish *et al.*, 2024). A curcumina apresenta potencial como agente quimioterápico para diferentes tipos de câncer, incluindo mama, pulmão, pâncreas, próstata e ovário (Rodrigues; Kumar; Thakur, 2019; Rashidzadeh *et al.*, 2021).

Além de inibir o tumor através dos mecanismos acima mencionados, a curcumina também atua sobre células imunes, incluindo células T, células dendríticas, macrófagos e células matadoras natural (NK – *natural killer*), modulando o microambiente imunossupressor

do tumor e favorecendo a polarização de macrófagos M1, associados à supressão do crescimento tumoral (Parker *et al.*, 2025).

Apesar de sua ampla aplicação, o uso clínico da CUR é limitado, devido ao seu caráter hidrofóbico, solubilidade limitada em água ($0,42 \pm 0,10 \mu\text{g mL}^{-1}$ a 25°C) e instabilidade ao pH (Oliveira *et al.*, 2025). Em meios neutros e alcalinos ($\text{pH} \geq 7,0$), a CUR é extremamente instável e apresenta tempo de meia-vida de aproximadamente 10 min, resultando em baixa biodisponibilidade tanto via intravenosa quanto via oral, o que acaba limitando suas aplicações terapêuticas. Em contraste, na faixa de pH de 3,0 a 6,5 é mais estável e apresenta tempo de meia-vida de aproximadamente 200 min (Zhou *et al.*, 2025). Além disso, sua natureza hidrofóbica limita sua captação celular, uma vez que a CUR tende a se ligar às cadeias acil graxa dos lipídios da membrana celular por meio de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas em vez de entrar eficientemente no citoplasma (Ghoran *et al.*, 2022; Kuzminska *et al.*, 2024).

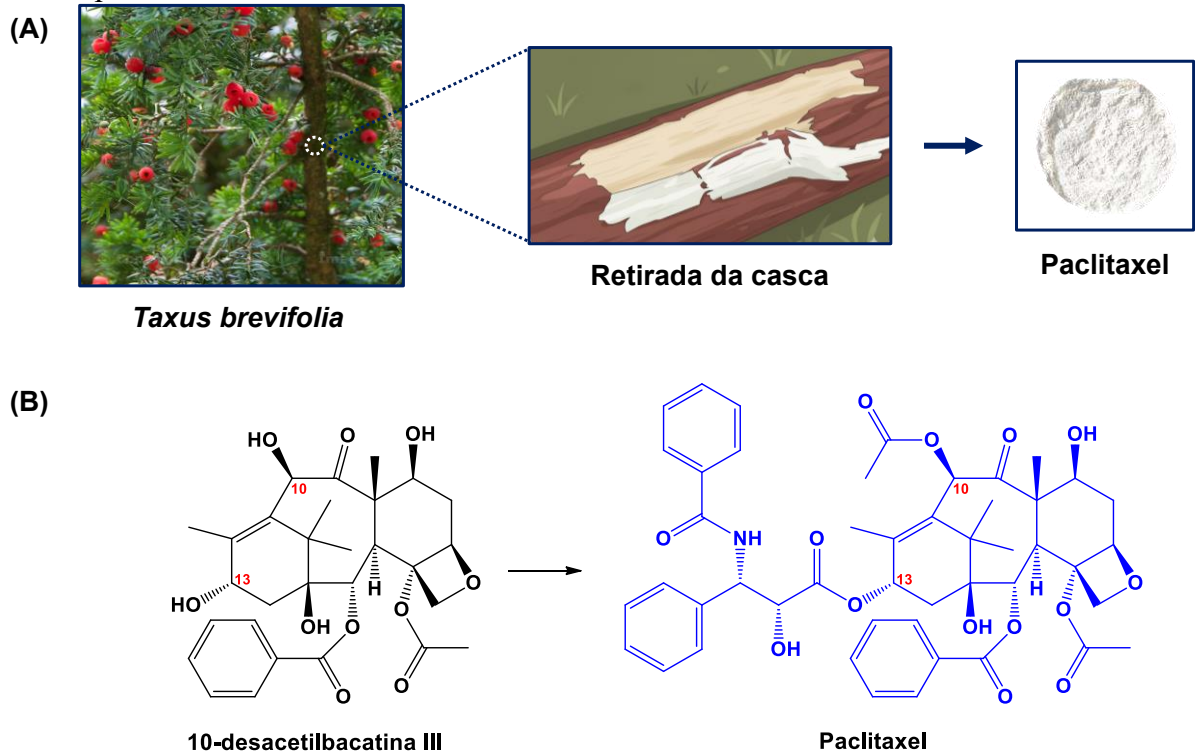
1.2.2 Paclitaxel

O Paclitaxel (PTX) é um alcalóide da classe dos taxanos descoberto pela primeira vez em 1963 na casca do teixo do pacífico *Taxus brevifolia* (Figura 3A). Sua atividade antitumoral foi descoberta na década de 1990 e seu uso na clínica foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1992 (Gallego-Jara *et al.*, 2020). No entanto, o seu processo de extração apresentava um grande problema, o fato da espécie *Taxus brevifolia* demorar cerca de 100 a 200 anos para atingir a maturidade e para a extração era necessário abater a árvore, o que poderia ocasionar a extinção dessa fonte. Uma solução encontrada para esse problema foi descoberta ao extrair a molécula 10-desacetilbacatina III das folhas da árvore *Taxus baccata*. Essa molécula apresenta a estrutura base e as funcionalidades do paclitaxel. Deste modo, o paclitaxel começou a ser desenvolvido via semi-síntese e em poucas etapas a partir da acetilação da posição 10 da 10-desacetilbacatina III e pela introdução da cadeia lateral na posição C-13 (Figura 3) (Souza, 2004; Żwawiak; Zaprutko, 2014).

Quimicamente, o paclitaxel pertence à classe dos diterpenóides e apresenta em sua estrutura um anel taxano com um anel lateral oxetano de quatro membros nas posições carbono-4 e carbono-5 e uma cadeia lateral éster homoquiral em carbono-13 (Figura 3B). É um agente quimioterápico de primeira linha que exibe atividade antineoplásica proeminente contra um

amplo espectro de tumores sólidos, como o de mama, ovário e pulmão (Kampan *et al.*, 2015; Noori *et al.*, 2025).

Figura 3 – Fonte de obtenção do paclitaxel (A) e estrutura química (B) da 10-desacetilbacatina III e do paclitaxel



Fonte: Noori *et al.* (2025, com adaptações).

O mecanismo de ação do paclitaxel se diferencia da grande maioria dos agentes quimioterápicos, uma vez que não interage diretamente com o DNA e RNA, nem interfere com a sua síntese. Seu efeito terapêutico é atribuído a ligação aos microtúbulos, que são elementos constituídos por proteínas heterodiméricas compostas por duas subunidades: α e β -tubulina e que estão presentes no citoesqueleto das células e apresentam funções que se estendem desde o transporte celular até a mitose (Alves *et al.*, 2018).

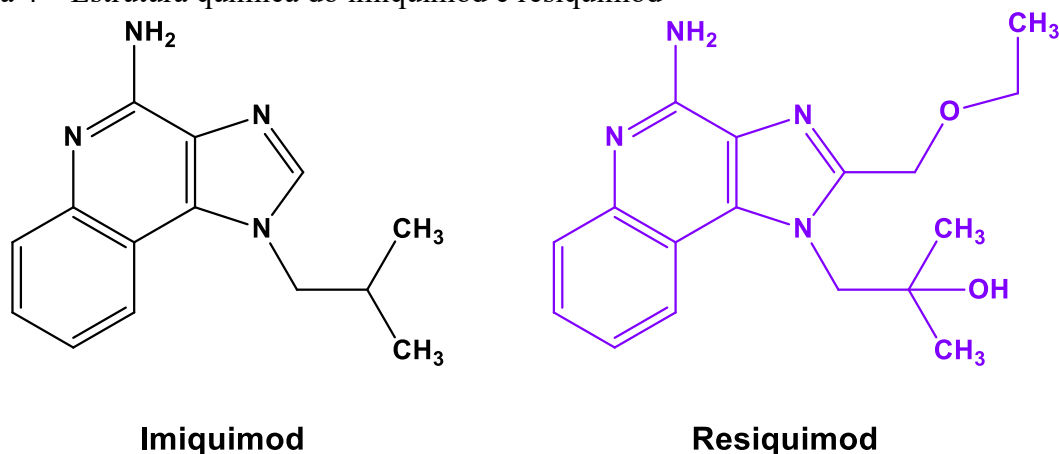
O paclitaxel atua na fase mitótica do ciclo celular, promovendo a polimerização dos microtúbulos a partir dos dímeros de tubulina para um estado estável evitando a despolimerização, o que resulta na supressão da dinâmica microtubular. Posteriormente, ocorre a perda da funcionalidade dos microtúbulos e a capacidade de divisão da célula na fase G2-M (intervalo 2-mitose) é interrompida devido a requisitos insuficientes do ponto de verificação mitótico, o que ocasiona a não proliferação de células neoplásicas e eventualmente resulta na morte celular via apoptose (Souza, 2004; Samaan *et al.*, 2019).

A aplicação clínica do paclitaxel é limitada por diversos fatores: (I) baixa solubilidade em água ($0,01 \text{ mg mL}^{-1}$) e baixa permeabilidade (Zhang *et al.*, 2024). Como tal, o PTX é mais utilizado na clínica como Taxol, uma formulação contendo Cremophor EL (óleo de rícino polietoxilado) e etanol em partes iguais. No entanto, essa formulação apresenta vários eventos adversos como reações de hipersensibilidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade e cardiotoxicidade (Li *et al.*, 2020); (II) não seletividade entre células cancerosas e normais, podendo causar toxicidade grave; (III) desenvolvimento de resistência a fármacos, o que limita a sua efetividade e aplicação (Reshma *et al.*, 2019) e (IV) ativa algumas vias de sinalização que inibem a apoptose e aumentam a sobrevivência das células cancerígenas (Saghatelyan *et al.*, 2020).

1.2.3 Resiquimod

O Resiquimod (R848), desenvolvido no início da década de 1980 para tratar pacientes infectados com o vírus herpes simplex tipo 2 (HSV-2), é uma pequena molécula ($314,40 \text{ g mol}^{-1}$) sintética pertencente ao grupo das imidazoquinolinas e um agonista ativador de *Toll-like* (TLR) TLR-7 e TLR-8 (Meyer *et al.*, 2013). Sua estrutura química (Figura 4), imidazoquinolina 4-amino-2-etoximetil- α,α -dimetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina-1-etanol, e mecanismo anticâncer em termos de ativação da resposta imunológica são semelhantes ao Imiquimod (IMQ), outro derivado da imidazoquinolina (Thauvin *et al.*, 2019). O R848 se destaca em relação ao IMQ devido a ativar a sinalização de TLR-7 e TLR-8, enquanto o IMQ é agonista apenas de TLR-7, tendo assim uma atividade antitumoral mais forte (Tambunlertchai; Geary; Salem, 2022).

Figura 4 – Estrutura química do imiquimod e resiquimod



Fonte: elaborada pela autora.

Os TLRs são receptores que estão presentes em células dendríticas e nos macrófagos. Atualmente, foram identificados 13 membros da família dos TLRs em camundongos (TLR1-TLR13) e 10 em células imunes humanas (TLR1-TLR10) (Khan *et al.*, 2025).

TLR-7 e TLR-8 estão localizados em membranas endossômicas intracelulares e são fortemente expressos por células imunes que infiltram o microambiente tumoral. A sinalização desses TLRs ativa células apresentadoras de antígenos que dão início a resposta imune. A sinalização ocorre através do fator de diferenciação mieloide 88 (MyD88) que ativa fatores de transcrição, como o NF- κ B (fator nuclear kappa B) (Khan *et al.*, 2025; Bhaliya *et al.*, 2025). O NF- κ B ativa células imunes, incluindo células dendríticas (CDs), monócitos e macrófagos, levando à produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo interferons (IFN- γ), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucinas (IL)-6 e -12 (Widmer *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2019). Em seguida, os macrófagos associados a tumores que modulam o microambiente tumoral por meio da ativação de respostas imunes inatas são desencadeados e o crescimento do tumor é inibido e o microambiente tumoral é interrompido (Bhaliya *et al.*, 2025).

O R848 após administração sistêmica, provoca toxicidades imunológicas graves, como anemia, linfopenia e sintomas semelhantes ao da gripe. Além disso, apresenta baixa solubilidade em meio aquoso. Com isso, apenas uma pequena porção da dose consegue ser administrada ao local de tratamento desejado após a circulação, resultando em efeitos terapêuticos limitados (Lu *et al.*, 2019; Lo *et al.*, 2024).

De modo a superar os obstáculos mencionados e melhorar a atividade dos agentes terapêuticos (CUR, PTX e R848), abordagens utilizando sistemas de administração de fármacos baseados em nanopartículas de pró-fármacos apresentam vantagens importantes, como: (I) aprimoramento da solubilidade aquosa do fármaco, estabilidade química e efetividade; (II) biodistribuição prolongada após administração intravenosa, (III) redução de eventos adversos e (IV) seletividade às células cancerígenas (Bernabeu *et al.*, 2017).

1.3 Pró-fármacos

O termo “pró-fármaco” foi introduzido pela primeira vez por Adrien Albert (1958) para designar derivados químicos farmacologicamente inativos que poderiam ser usados para alterar as propriedades físico-químicas dos fármacos, de forma temporária, de modo a aumentar a sua utilidade e/ou diminuir a toxicidade associada. A estratégia de pró-fármaco é utilizada para melhorar a distribuição de fármacos que são quimicamente instáveis, têm baixa

solubilidade aquosa, rápida degradação e efeitos fora do alvo que resultam em toxicidade e irritação local (Nguyen *et al.*, 2021).

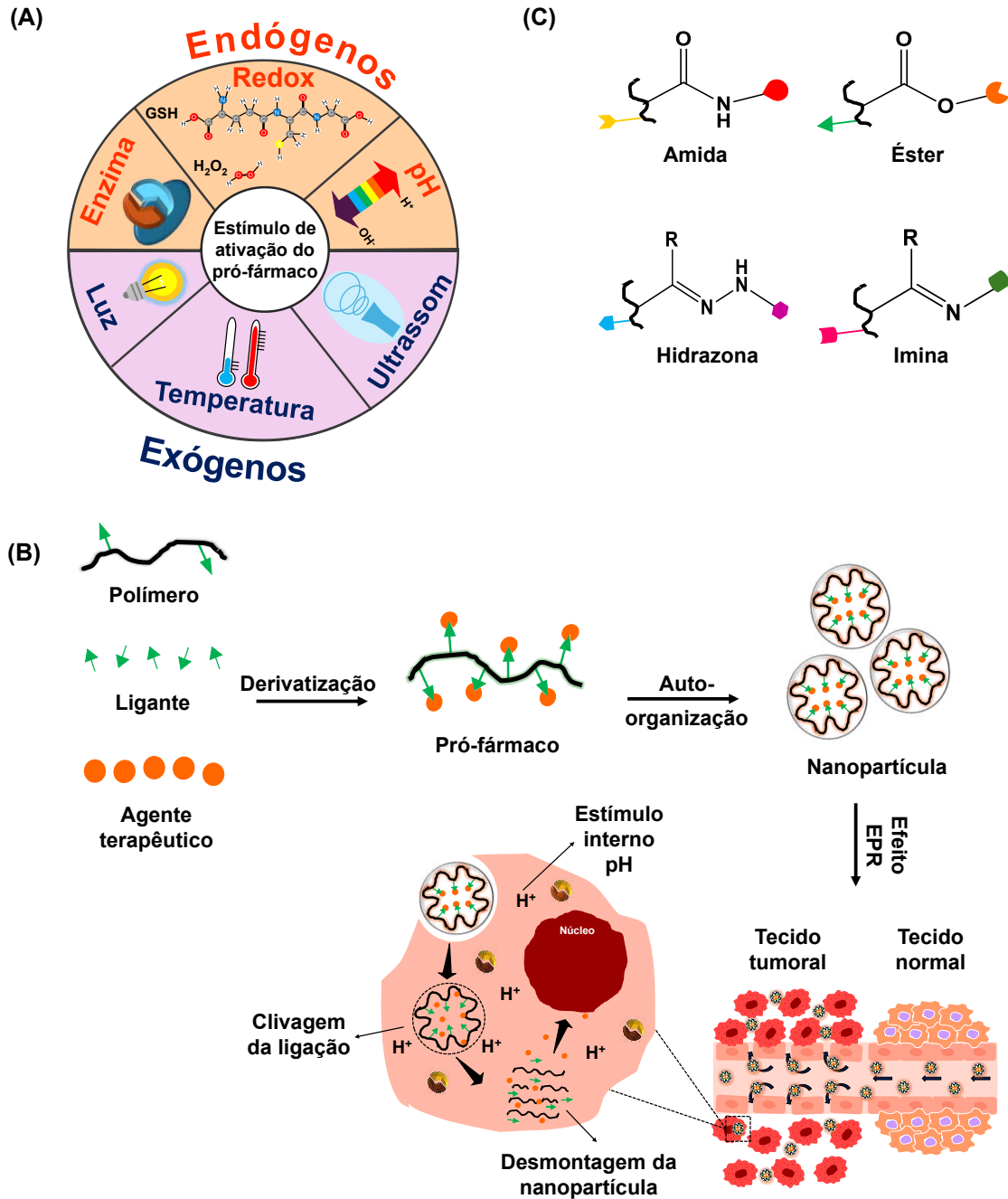
Os pró-fármacos na forma inativa podem ser convertidos *in vivo* nas moléculas ativas do fármaco através de processos endógenos (ex.: enzimas, espécies reativas de oxigênio e acidez) ou estímulos exógenos (ex.: luz, ultrassom e temperatura) (Figura 5A) e exercer seu efeito terapêutico. Idealmente, o pró-fármaco deve ser convertido no fármaco original assim que o alvo for alcançado, seguido pela rápida eliminação do grupo de derivatização libertado (Ding *et al.*, 2022; Han *et al.*, 2023).

Um projeto de pró-fármaco bem-sucedido requer (I) um fármaco ativo que possua um grupo funcional adequado para modificações; (II) uma pró-unidade que supere barreiras para a entrega do fármaco e (III) uma ligação reversível que facilite a liberação eficiente e específica do fármaco original (Figura 5B) (Nguyen *et al.*, 2021).

Os pró-fármacos poliméricos são sintetizados através da ligação covalente de fármacos em uma estrutura polimérica, através de grupos ativos (amino, carboxila, aldeído ou hidroxila) formando ligações sensíveis ao microambiente tumoral, tais como: ligação amida, éster, hidrazona e imina (Figura 5C) e geralmente formam nanopartículas com um núcleo hidrofóbico e um invólucro hidrofílico (Li *et al.*, 2022; Nazli *et al.*, 2024).

O desenvolvimento de pró-fármacos para aplicação oncológica tem propiciado uma série de benefícios, incluindo propriedades farmacológicas aprimoradas, melhor efetividade clínica e redução dos eventos adversos (Chen *et al.*, 2021). Esse sistema de administração de fármacos se destaca dos demais por permitir a entrega preferencial de fármacos no sítio tumoral, devido ao efeito de permeabilidade e retenção aprimorada (EPR), um fenômeno que ocorre particularmente nos tumores sólidos devido às suas características anatômicas e fisiopatológicas distintas dos tecidos normais, como lacunas maiores no endotélio vascular em comparação com os tecidos normais (Figura 5B) (Bernabeu *et al.*, 2017).

Figura 5 – Estímulos de ativação (A), processo de formação (B) do pró-fármaco e ligações sensíveis a estímulos (C)



GSH – glutatona (antioxidante biológico); H_2O_2 – peróxido de hidrogênio
 Fonte: Ding *et al.* (2022, com adaptações).

O pró-fármaco proporciona a entrega de fármacos à área tumoral, devido ao microambiente redox, pH intracelular e extracelular e superexpressão de proteínas presente nas células (Abbasi *et al.*, 2023). O sistema sensível ao pH tem sido mais amplamente usado devido ao pH mais baixo em ambientes tumorais, causado pelo acúmulo de metabólitos de lactato no interstício tumoral (Li *et al.*, 2022). O microambiente tumoral extracelular exibe valores de pH de 6,5-6,8; enquanto o pH do tecido normal é de 7,4. Diferenças de pH ainda maiores podem

ser encontradas no microambiente tumoral intracelular, endossomos e lisossomos tardios têm valores de pH na faixa de 4,0-6,0 (Wu *et al.*, 2023a). Portanto, os sistemas de entrega sensíveis ao pH são valiosos para transportar moléculas de fármacos em um meio fisiológico e liberar rapidamente em pH mais baixo nos locais do tumor de modo a satisfazer as concentrações terapêuticas do fármaco no microambiente tumoral e/ou nas células cancerosas.

A primeira exemplificação prática de uso de pró-fármaco na terapia do câncer foi um conjugado polímero-proteína (Maeda *et al.*, 1985). Os autores demonstraram que a atividade anticancerígena de uma proteína poderia ser melhorada pela conjugação com um polímero, usando uma ligação amida entre o grupo amino terminal do peptídeo e o carboxilânido do polímero. Eles demonstraram que a proteína conjugada se acumulava preferencialmente no tecido tumoral devido ao aumento do tamanho molecular, uma característica que prolongou a circulação sanguínea e aumentou o acúmulo no tumor através da vasculatura tumoral com permeabilização. Este fenômeno, que é comumente conhecido como EPR, resultou em maior efetividade e redução da toxicidade do fármaco (Maeda *et al.*, 1985).

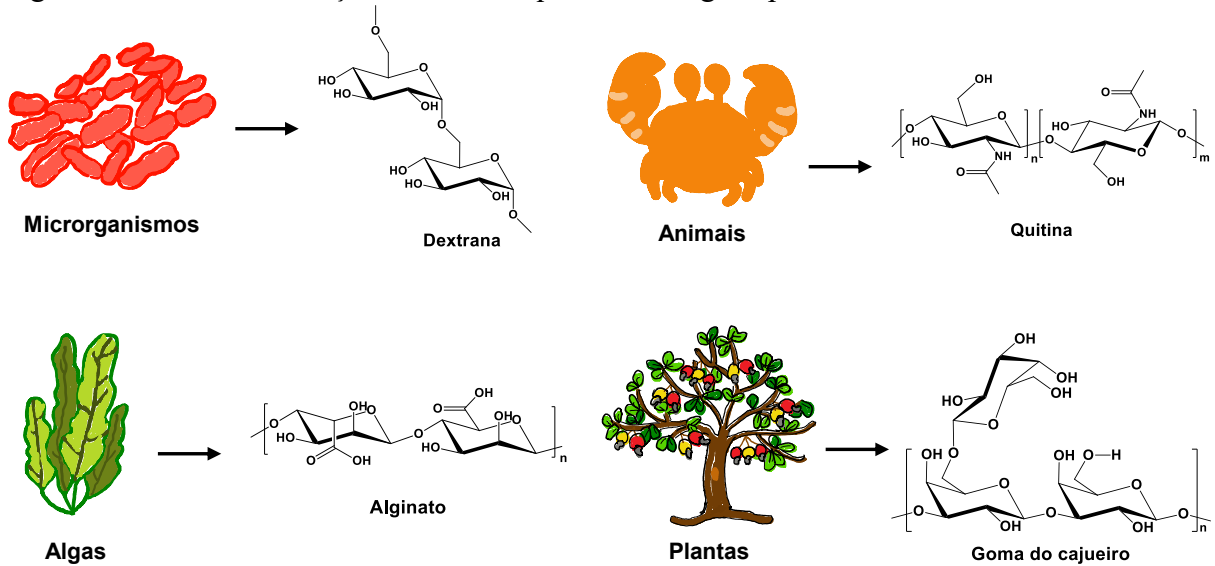
Os nanocarreadores baseados em pró-fármacos poliméricos oferecem uma nova estratégia para criar sistemas combinados de terapia contra o câncer, encapsulando de forma não covalente (por interações hidrofóbicas e/ou empilhamento π - π) um fármaco. Essa combinação facilita os efeitos terapêuticos sinérgicos através da acumulação simultânea de múltiplos fármacos (Ge *et al.*, 2016). Dentre os sistemas de administração terapêutica, os polissacarídeos têm sido os preferidos como excipientes, por apresentarem propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (Badwaik *et al.*, 2022).

1.4 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são macromoléculas muito versáteis constituídos por unidades de monossacarídeos unidos covalentemente por ligações glicosídicas. Essas macromoléculas podem apresentar diversas atividades biológicas, como antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, anticoagulante e imunorreguladora, o que as torna constituintes relevantes de materiais empregáveis na área médica e farmacêutica (Murphy *et al.*, 2023). São de origem natural e podem ser obtidos de microrganismos (dextrana, pululana), animais (quitina, ácido hialurônico), algas (alginato, carragenana) e plantas (galactomanana, goma do cajueiro) (Figura 6) (Delgobo *et al.*, 1998; de Paula; Paula; Feitosa, 2018; de Azevedo *et al.*, 2022; Amaral *et al.*, 2022). Além disso, os polissacarídeos possuem muitos grupos funcionais reativos (como

hidroxila, amino e carboxila) em sua estrutura, o que viabiliza a sua modificação química e consequente uso no desenvolvimento de pró-fármacos direcionados ao tratamento do câncer.

Figura 6 – Fonte de obtenção e estrutura química de alguns polissacarídeos



Fonte: elaborada pela autora.

Na Tabela 1 estão reportados alguns exemplos de nanopartículas de pró-fármacos à base de polissacarídeo com foco na terapia antitumoral direcionada. Em suma, o uso dos polissacarídeos em formulações de nanopartículas pH-responsivas proporcionou liberação controlada e direcionada dos fármacos aos sítios tumorais, melhorando o efeito terapêutico dos fármacos e proporcionando maior eficácia anticancerígena em relação ao fármaco livre. Além disso, ocasionaram supressão do crescimento tumoral e redução dos efeitos colaterais sistêmicos.

Tabela 1 – Exemplos de nanopartículas de pró-fármacos pH-responsivos à base de polissacarídeos com foco na terapia direcionada do câncer

Tipo de polissacarídeo/derivado	Tipo de ligação	Agente terapêutico	Foco	Linhagem celular testada	Principais conclusões	Referência
Ácido hialurônico	Amida	Doxorrubicina/ Resiquimod	Quimio/imunoterapia	MCF-7, 4T1, MDA-MB-231, DC2.4 e RAW264.7	Efeitos sinérgicos no crescimento tumoral.	Liu <i>et al.</i> (2018).
Xilana	Éster	Curcumina	Quimioterapia	HT-29, HCT-15	Maior efeito citotóxico do que o fármaco livre.	Sauraj <i>et al.</i> (2018).
Ácido hialurônico	Hidrazona	Curcumina	Quimioterapia	4T1 e MCF-7	Efeito terapêutico superior a curcumina livre na supressão do crescimento tumoral.	Lai <i>et al.</i> (2021).
Carboximetil quitosana	Amida	Cisplatina	Quimioterapia	HepG2, MCF-7, A549 e H22	Induziram citotoxicidade, supressão tumoral e redução dos efeitos colaterais.	Wang <i>et al.</i> (2022).
Alginato carboximetilado	Éster	Resiquimod	Quimio/imunoterapia	MFC	Aumentaram a eficácia da quimioterapia e da imunoterapia por meio	Chen <i>et al.</i> (2023).

					da modulação do microambiente tumoral.	
Carboximetilcelulose	Éster	Docetaxel	Quimioterapia	4T1 e A549	Eficácia antitumoral superior ao fármaco livre e baixa toxicidade sistêmica.	Liu. <i>et al.</i> (2023b).
Galactomanana oxidada	Imina	Doxorrubicina	Quimioterapia	B16F10, HCT-116 e MCF-7	Redução da viabilidade celular em comparação com o fármaco livre.	de Lima <i>et al.</i> (2024).
Quitosana	Éster	Paclitaxel	Quimioterapia	4T1	Inibiram efetivamente a proliferação celular e apresentaram um efeito considerável de supressão tumoral.	Ma <i>et al.</i> (2024).
Goma do cajueiro oxidada	Imina	Doxorrubicina	Quimioterapia	HCT-116 e MCF-7	Demonstraram atividade antitumoral e citotoxicidade significativamente reduzida.	Ribeiro <i>et al.</i> (2024).

Dextrana	Ímina	Doxorrubicina/ Curcumina	Quimio/fotodinâmica terapia	HCT-116	Inibiram a proliferação celular e apresentaram maior citotoxicidade em comparação com a monoterapia. Exibiram potente citotoxicidade celular, ao mesmo tempo que remodelaram o microambiente tumoral imunossupressor.	Carneiro <i>et al.</i> (2025)
Ácido hialurônico	Éster	Paclitaxel/ Alantolactona	Quimio/imunoterapia	CT26		Wu <i>et al.</i> (2025a).

MCF-7, 4T1, MDA-MB-231: células de câncer de mama.; DC2.4 e RAW264.7: células imunes.; A549: células de câncer de pulmão.; H22, HepG2: células de câncer de fígado.; MFC: células de câncer de estômago murino.; HT-29, HCT-15, HCT-116 e CT26: células de câncer colorretal.; B16F10: células cancerígenas do melanoma.
Fonte: elaborada pela autora.

1.4.1 Goma do cajueiro

O cajueiro (*Anacardium occidentale*) (Figura 7A) é uma planta perene pertencente à família *Anacardiaceae*, nativa da região Nordeste do Brasil que apresenta uma área cultivada de aproximadamente 425 mil hectares no Brasil, sendo 63,9%, no Ceará; 17,2%, no Piauí e 11,7%, no Rio Grande do Norte (Brainer, 2022).

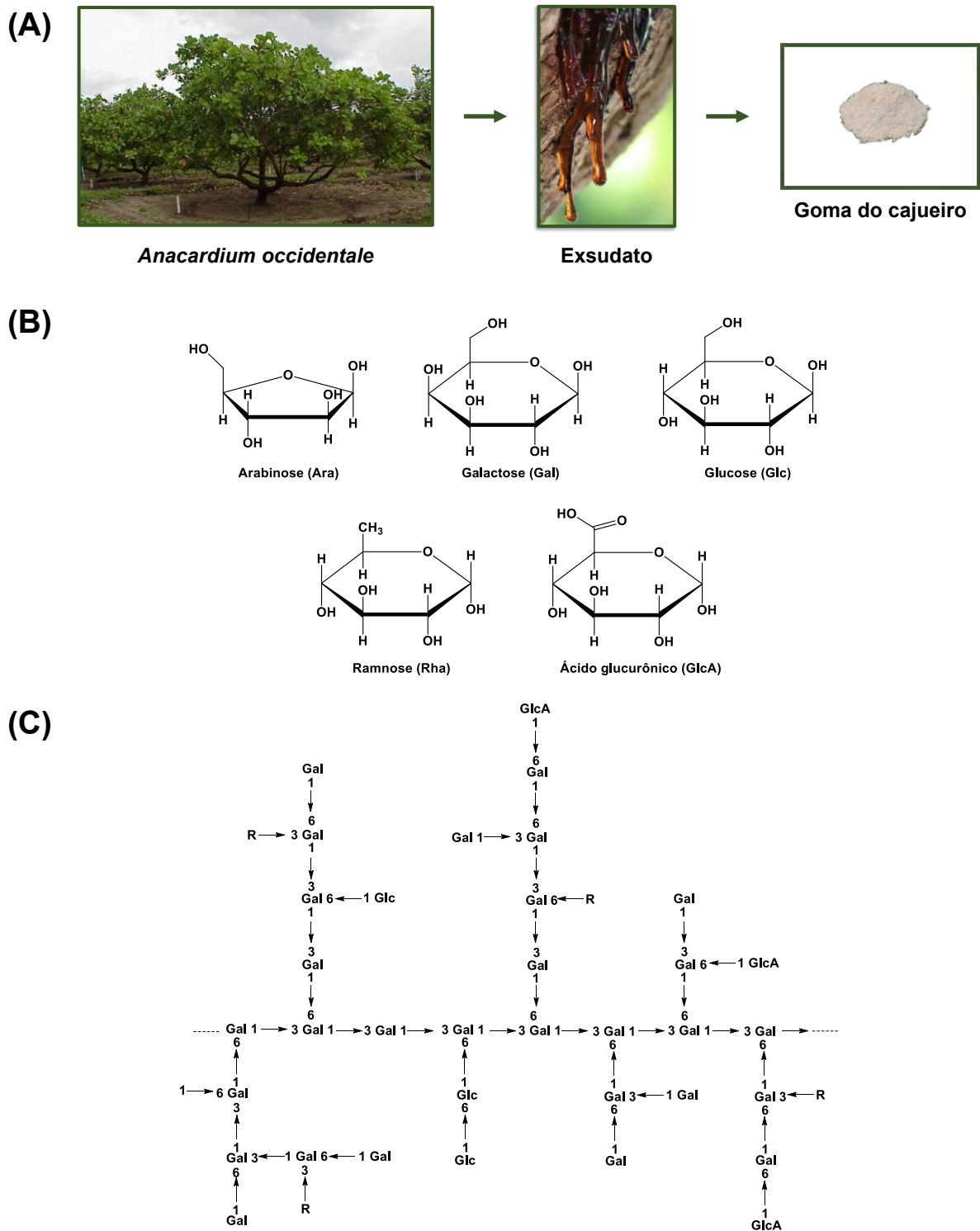
A cultura do cajueiro apresenta um grande valor comercial através dos diversos produtos dela derivados, como o pseudofruto (caju), a castanha de caju, as cascas e folhas utilizadas para fins nutricionais, medicinais e industriais. Embora o principal produto do cajueiro seja a castanha, a goma obtida do exsudado da planta, conhecida como goma do cajueiro, tem potencial aplicação como componente de biomaterial em diferentes formas para uma ampla gama de finalidades, desde a entrega de agentes terapêuticos até a engenharia de tecidos (de Azevedo *et al.*, 2022). O exsudato é produzido pelas células epiteliais das plantas quando o córtex é fisicamente lesado ou sofre algum ataque microbiano (Amaral *et al.*, 2022).

A goma do cajueiro (GC) extraída do exsudato da árvore do Nordeste do Brasil possui em sua composição unidades de β -D-galactopiranosose (72-73%), α -D-glucopiranosose (11-14%), α -L-arabinofuranose (4,6-5,0%), α -L-ramnopiranosose (3,2-4%) e ácido β -D-galacturônico (4,7-6,3%) em percentagem de massa (Figura 7B) e uma estrutura ramificada com uma cadeia principal de unidades de galactose unidas por ligações do tipo 1 \rightarrow 3 e ramificações constituídas de unidades de galactose ligadas por ligações do tipo 1 \rightarrow 6, com cadeias laterais formadas pelas demais unidades como grupos terminais (Figura 7C) (Delgobo *et al.*, 1998; de Paula; Rodrigues, 1995; de Paula *et al.*, 1998).

A GC tem sido proposta como excipiente farmacêutico para a produção de comprimidos (de Sá Pinto *et al.*, 2018), no desenvolvido de filmes bioativos para aplicação como curativos (Silva *et al.*, 2016), *scaffolds* para uso dentário (Leite *et al.*, 2023) e na engenharia de tecidos (Maciel *et al.*, 2019; Ferreira *et al.*, 2021), nanofibra para cicatrização de feridas (Rajora; Bal, 2023) e em nanopartículas para tratamento do câncer (Ribeiro *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2024), doenças negligenciadas (Richter *et al.*, 2020; Richter *et al.*, 2022), doenças inflamatórias (Lima *et al.*, 2023; Pitombeira *et al.*, 2015), doença de chagas (Oliveira *et al.*, 2023) e tratamento de diabetes (Silva *et al.*, 2023).

No entanto, formulações à base de goma do cajueiro para carreamento múltiplo de fármacos ainda não foram reportadas na literatura. Tendo então o foco deste trabalho avaliar o uso da GC no carreamento múltiplo de curcumina/paclitaxel e curcumina/resiquimod na terapia combinada contra o câncer.

Figura 7 – Fonte de obtenção (A), estrutura química dos monossacarídeos presentes (B) e proposta de representação estrutural de um segmento da goma do cajueiro (R representa ramnose ou arabinose) (C)



A GC apresenta em sua estrutura química diferentes grupos funcionais, como hidroxila e carboxila, passíveis de modificações químicas. O método de modificação química consiste na introdução de outros grupos ativos na cadeia do polissacarídeo por métodos

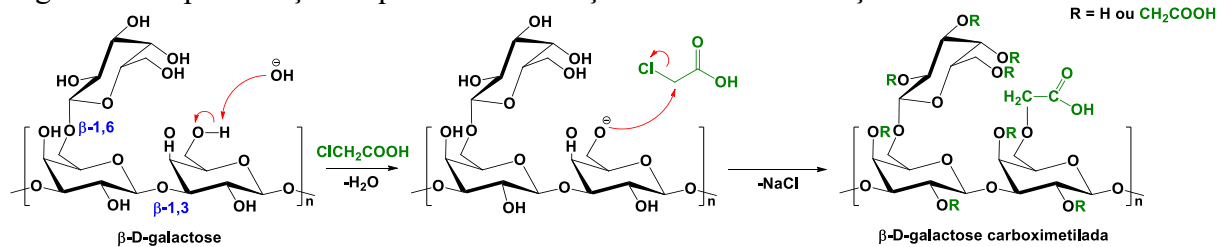
químicos, levando à geração de derivados com propriedades distintas para aplicações específicas (Chakka; Zhou, 2020). As modificações químicas realizadas na estrutura da GC, incluem carboximetilação (Silva *et al.*, 2004), sulfatação (Moura Neto *et al.*, 2011), oxidação (Ferreira *et al.*, 2021) e acilação (Richter *et al.*, 2022).

A carboximetilação é amplamente empregada devido à facilidade de processamento e a versatilidade do produto obtido, além de melhorar a solubilidade (Badwaik *et al.*, 2022).

1.5 Carboximetilação

A reação de carboximetilação consiste na introdução de grupos carboximetila na cadeia do polissacarídeo. A reação é baseada na síntese éter de Williamson e ocorre em duas etapas (Figura 8). Na primeira etapa, ocorre a reação entre os grupos hidroxila do polissacarídeo com hidróxido de sódio aquoso (NaOH), formando os grupos alcóxido (Chakka; Zhou, 2020). O hidróxido de sódio aumenta a nucleofilicidade dos grupos hidroxila livres (particularmente na posição C6 - CH₂OH). Na segunda etapa, os grupos alcóxidos formados reagem com o ácido monocloroacético (AMC, ClCH₂COOH) via reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), formando os grupos carboximetil (Xie *et al.*, 2021).

Figura 8 – Representação esquemática da reação de carboximetilação



Fonte: elaborada pela autora.

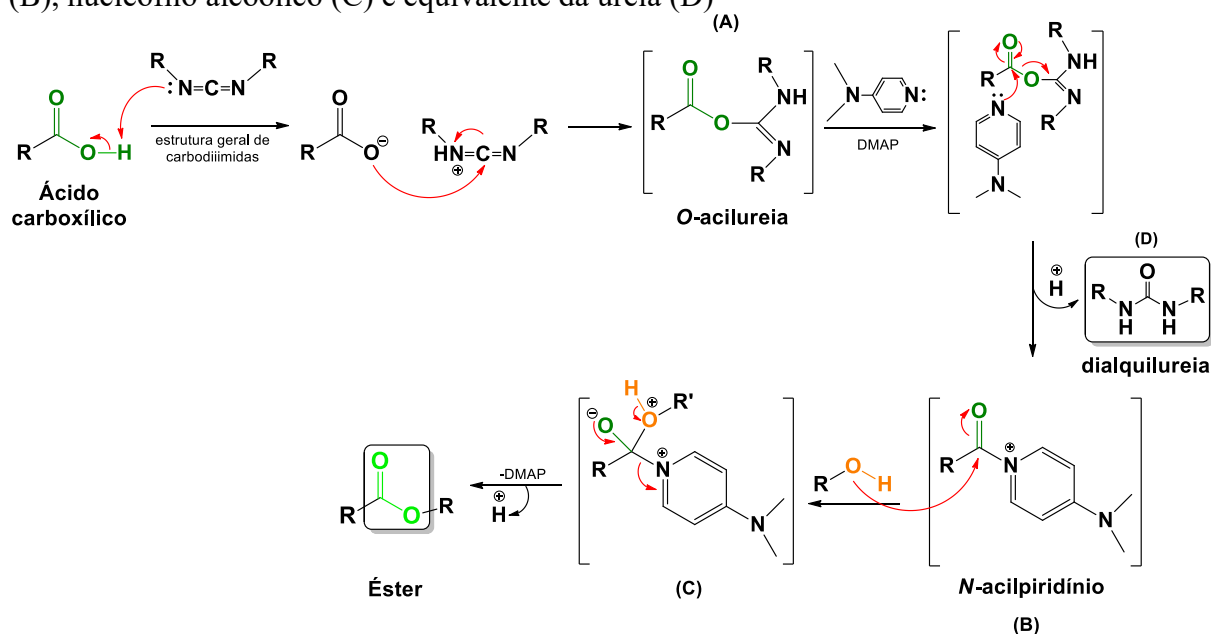
As gomas carboximetiladas encontram diversas aplicações no campo farmacêutico devido às suas propriedades funcionais alteradas em relação às gomas nativas, como aumento da solubilidade em água e viscosidade. As propriedades estruturais e físico-químicas das gomas carboximetiladas possibilitam a conjugação com os grupos hidroxila de fármacos na presença de carbodiimida como reagente de acoplamento, formando ligações éster (Baghel *et al.*, 2023).

1.6 Esterificação

A esterificação é uma reação amplamente utilizada para a síntese de ésteres a partir de ácidos carboxílico e álcoois. Uma das condições mais utilizadas para a formação de uma ligação éster foi desenvolvido em 1978 por Neises e Steglich e emprega carbodiimida e 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) (Neises; Steglich, 1978).

A reação ocorre pela ativação de ácidos carboxílicos por meio de carbodiimidas (Figura 9), levando à formação *in situ* de anidridos mistos (A). Esses intermediários sofrem ataque nucleofílico do DMAP, presente em quantidade catalítica, originando um segundo intermediário (B), estabilizado por ressonância e caracterizado por possuir um melhor grupo abandonador. Em seguida, o intermediário (B) reage rapidamente com um nucleófilo (C), como os álcoois, resultando na formação de ésteres como produtos e regenerando o DMAP no meio reacional. Nesse processo, ocorre a formação de um equivalente de ureia (D), derivado da carbodiimida, como subproduto (Tsakos *et al.*, 2015).

Figura 9 – Representação esquemática do mecanismo da reação de esterificação via química de carbodiimida/DMAP entre um ácido carboxílico e um álcool. Anidrido misto (A), intermediário (B), nucleófilo alcoólico (C) e equivalente da ureia (D)



Fonte: Tsakos *et al.* (2015, com adaptações).

A N,N'-Diciclohexilcarbodiimida (DCC) foi uma das primeiras carbodiimidas desenvolvidas para esta finalidade e se tornou amplamente utilizada devido aos altos rendimentos obtidos nas reações em que é empregada. Contudo, seu uso é evitado, devido a

ureia formada como subproduto no meio reacional ser de difícil remoção, dificultando o processo de purificação do produto final (Neises; Steglich, 1978; Jordan *et al.*, 2021).

O reagente 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) é uma carbodiimida hidrossolúvel utilizada como substituinte ideal para a DCC, pois a ureia formada como subproduto é facilmente removida do meio reacional através de lavagens com água. O DMAP atua como um catalisador nucleofílico, acelerando a reação ao formar um sal de acilpiridínio propenso ao ataque nucleofílico pelo álcool (Tsakos *et al.*, 2015).

A reação de esterificação utilizando química de carbodiimida é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de pró-fármacos, visto que a ligação éster pode ser clivada em meio ácido e por meio de reações mediadas por proteases, enzimas presentes no microambiente celular (externo e interno) que catalisam a hidrólise (clivagem da ligação covalente com a participação de uma molécula de água) (Zhang *et al.*, 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar sistemas pH-responsivo de entrega combinada de fármacos à base de goma do cajueiro quimicamente modificada para potencial uso na terapia do câncer.

2.2 Objetivos específicos

Obter e caracterizar derivado da goma do cajueiro por reação de carboximetilação para uso como matriz em formulações de pró-fármacos;

Sintetizar o pró-fármaco de goma do cajueiro carboximetilada e curcumina via reação de esterificação (interação covalente) e encapsular separadamente o paclitaxel e o resiquimod por auto-organização em meio aquoso (via interações não covalentes);

Caracterizar estruturalmente os materiais obtidos e sintetizados para confirmar a eficiência das reações químicas;

Investigar as características físico-químicas das nanopartículas preparadas via auto-organização dos pró-fármacos em meio aquoso;

Comparar a estabilidade química da curcumina livre e ligada nas nanopartículas em pH 5,0 e 7,4 a 37 °C;

Verificar a capacidade pH-responsiva das nanopartículas por meio do percentual de liberação *in vitro* dos fármacos das nanopartículas em pH 5,0 e 7,4 a 37 °C;

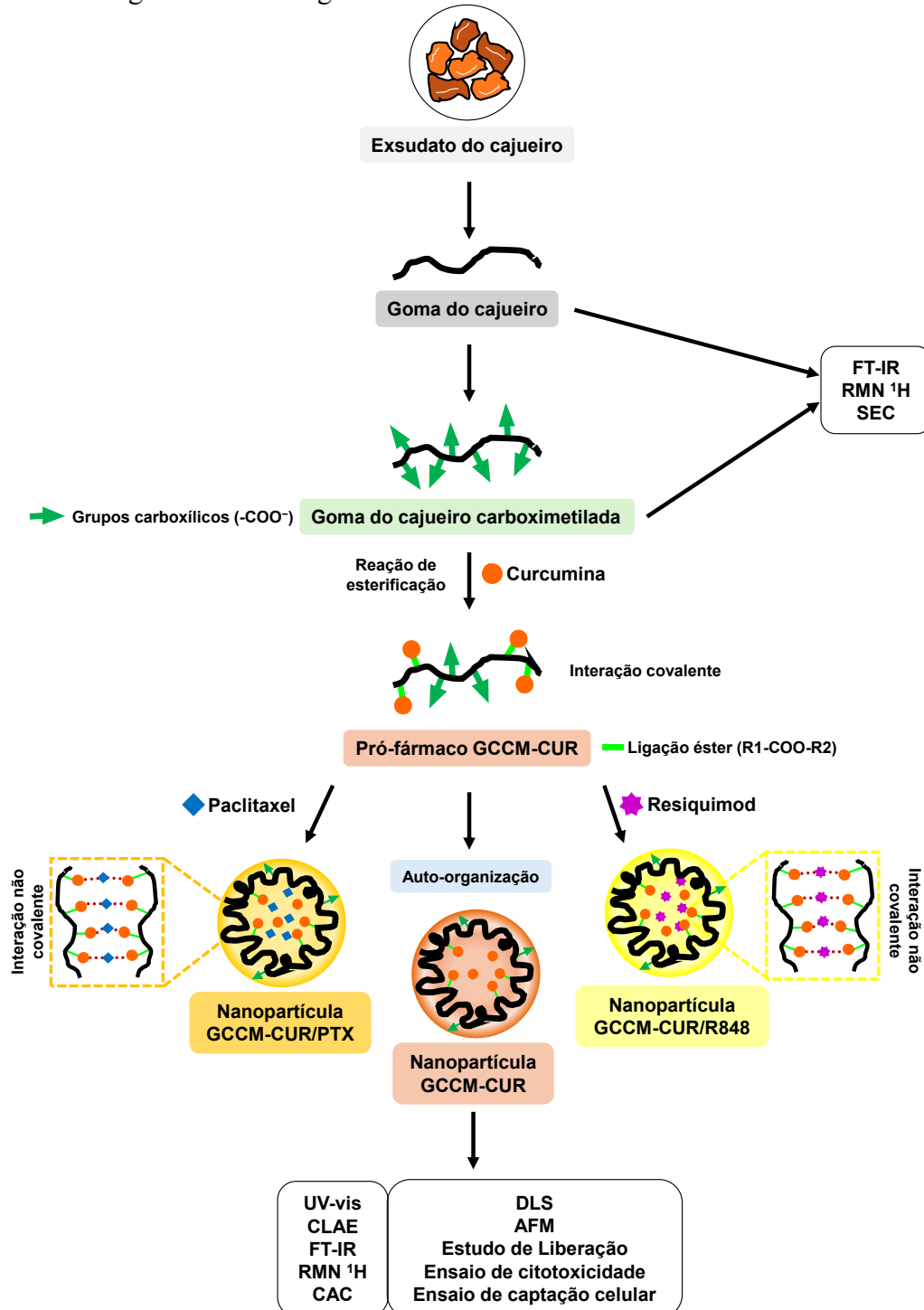
Avaliar a citotoxicidade e a internalização intracelular das nanopartículas em células cancerosa e não-cancerosa.

3 METODOLOGIA

3.1 Etapas do desenvolvimento do trabalho

Na Figura 10, encontra-se o fluxograma das etapas desenvolvidas neste trabalho.

Figura 10 – Fluxograma metodológico do trabalho



Fonte: elaborada pela autora.

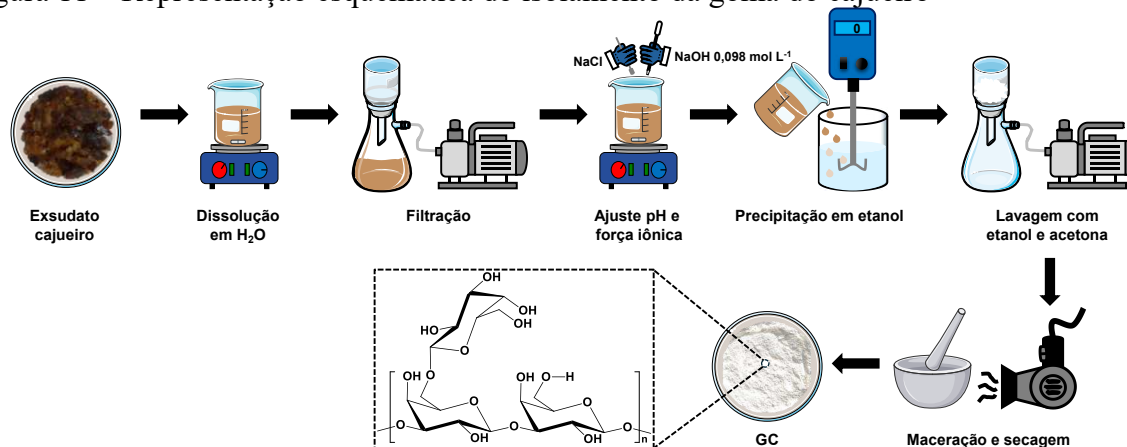
3.2 Materiais

O exsudato do cajueiro (*Anacardium occidentale*) foi fornecido pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Acetona, ácido clorídrico, álcool etílico, ácido monocloroacético, dimetilsulfóxido (DMSO) e hidróxido de sódio foram adquiridos da Synth. 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), 4-Dimetilaminopiridina (DMAP), curcumina (CUR, $\geq 65\%$), paclitaxel (PTX), resiquimod (R848), pireno e membrana de diálise com limite de massa molar $14.000 \text{ g mol}^{-1}$ foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

3.3 Isolamento da goma do cajueiro

A goma do cajueiro foi isolada seguindo a metodologia descrita por Rodrigues, de Paula e Costa (1993) (Figura 11). O exsudato triturado (10 g) foi dissolvido em água destilada (100 mL) sob agitação magnética por 12 h a temperatura ambiente ($\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$). A solução foi filtrada em funil de placa sinterizada número 1, a fim de remover resíduos sólidos. Em seguida, neutralizada com a adição de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ padronizado ($0,098 \text{ mol L}^{-1}$) e a força iônica ajustada com a adição de NaCl (1 g). A solução foi precipitada em álcool etílico comercial (1:4 v/v). O precipitado obtido foi filtrado em funil de placa sinterizada número 3, lavado com álcool etílico absoluto e acetona (três vezes). A goma do cajueiro (retida no filtro) foi macerada, seca em almofariz com jato de ar quente e denominada GC.

Figura 11 – Representação esquemática do isolamento da goma do cajueiro

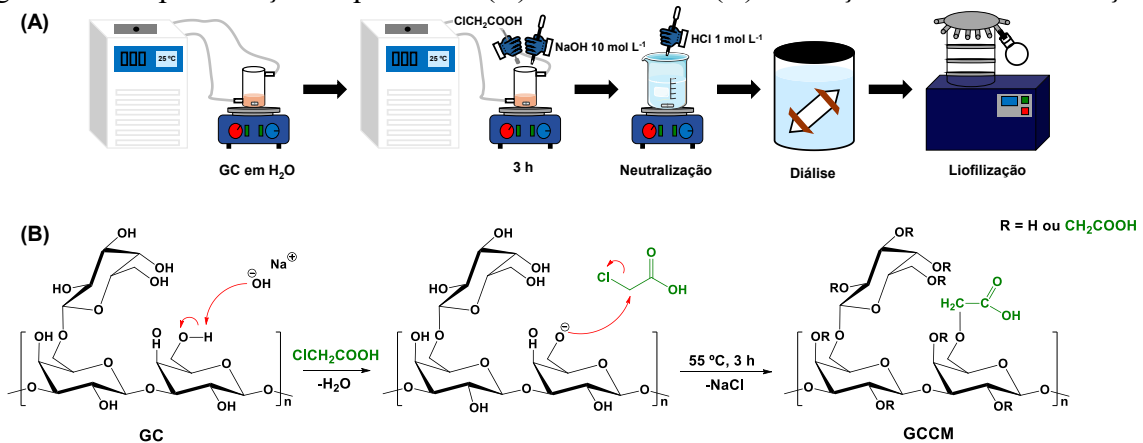


Fonte: elaborada pela autora.

3.4 Reação de carboximetilação da goma do cajueiro

A reação de carboximetilação da goma do cajueiro foi realizada a partir da metodologia proposta por Silva *et al.* (2004) na proporção molar 1:2:1 (GC:NaOH:AMC) (Figura 12). A goma do cajueiro (5 g) foi adicionada lentamente em água destilada (5 mL) sob agitação magnética a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a formação de uma pasta homogênea. Posteriormente, hidróxido de sódio (6,2 mL, 10 mol L^{-1}) foi adicionado e mantido sob agitação magnética a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 10 minutos. Em seguida, ácido monocloroacético (2,9 g) foi adicionado à pasta homogênea e a reação prosseguiu sob agitação magnética por 3 h a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$. O produto formado foi neutralizado com ácido clorídrico (1 mol L^{-1}) e dialisado em membrana de celulose (14.000 g mol^{-1}) contra água destilada para remoção dos subprodutos reacionais, com trocas de água a cada 24 h, até que a condutividade da água de diálise fosse igual à condutividade da água destilada. O material foi seco por liofilização e denominado de GCCM.

Figura 12 – Representação esquemática (A) e mecanismo (B) da reação de carboximetilação



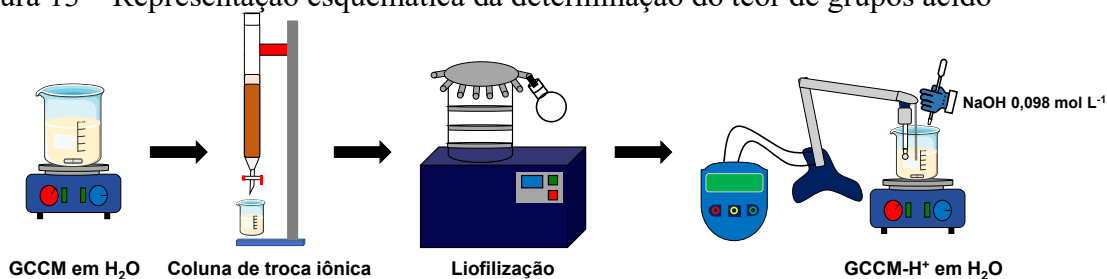
Fonte: elaborada pela autora.

3.4.1 Determinação do teor de grupos ácido na goma do cajueiro e na goma do cajueiro carboximetilada

O teor de grupos ácido presentes na GC e na GCCM foi determinado por titulação potenciométrica (Figura 13). O polissacarídeo (50 mg) foi dissolvido em água destilada (25 mL) sob agitação magnética por 24 h a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Posteriormente, foi eluído em coluna com resina Amberlite IR-120H⁺ para deixá-lo na forma ácida e, em seguida, seco por liofilização. O polissacarídeo na forma ácida (GCCM-H⁺; 25 mg) foi dissolvido em

água destilada (25 mL) sob agitação magnética por 24 h a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) e titulado com solução de hidróxido de sódio $0,1\text{ mol L}^{-1}$ padronizado ($0,098\text{ mol L}^{-1}$). A quantidade de grupos ácido presentes no polissacarídeo foi calculado por aproximações sucessivas (APÊNDICE A).

Figura 13 – Representação esquemática da determinação do teor de grupos ácido



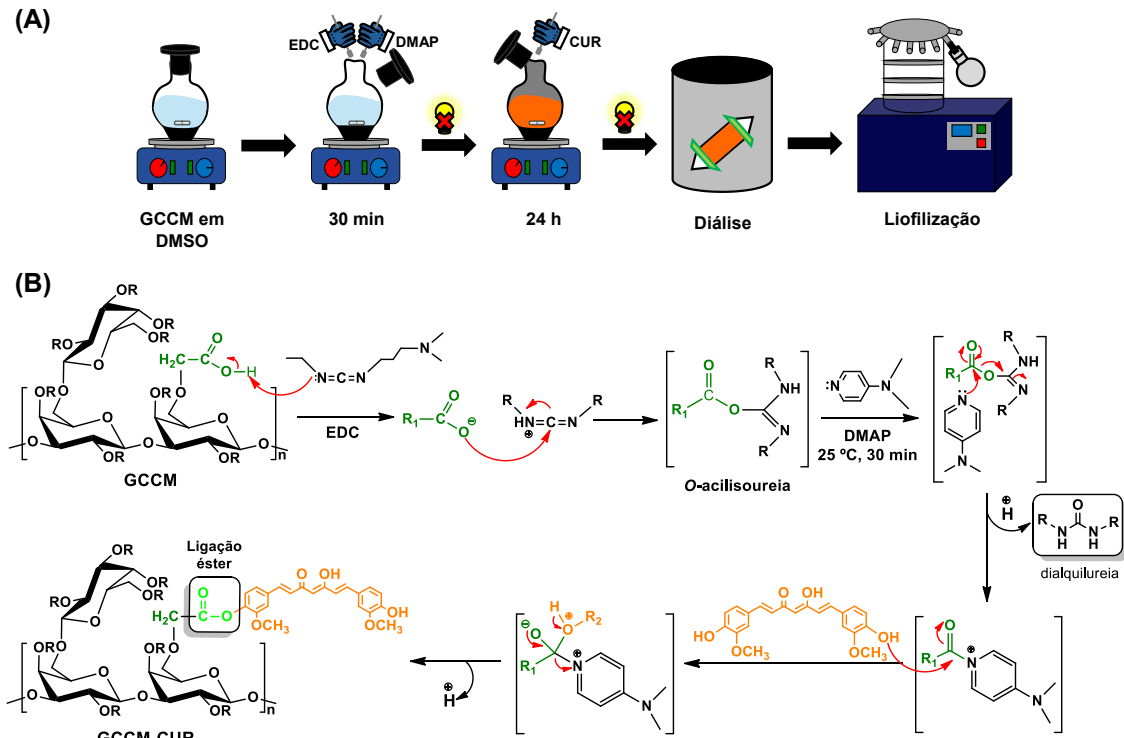
Fonte: elaborada pela autora.

3.5 Síntese do pró-fármaco de goma do cajueiro carboximetilada com curcumina (GCCM-CUR) via química de carbodiimina

O agente terapêutico curcumina (CUR) foi conjugado a GCCM via reação de esterificação entre o grupo carboxila presente na GCCM e o grupo hidroxila da CUR (Figura 14). A síntese do pró-fármaco foi adaptada a partir da metodologia proposta por Sarika *et al.* (2015a).

A GCCM (10 mg, $2,6 \times 10^{-5}$ mol) foi dissolvida em DMSO (5 mL) sob agitação magnética por 24 h a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). O DMAP (3,3 mg, $2,6 \times 10^{-5}$ mol) e o EDC (5,1 mg, $2,6 \times 10^{-5}$ mol) foram adicionados à solução do polissacarídeo e mantidos sob agitação magnética por 30 min a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) para ativar o grupo carboxila presente na GCCM. A esta solução foi adicionada a curcumina (2,0 mg, $5,24 \times 10^{-5}$ mol). A reação prosseguiu sob agitação magnética por 24 h a temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) na ausência de luz. A solução resultante foi dialisada em membrana de celulose (14.000 g mol^{-1}) contra água destilada por 72 h na ausência de luz. A saída do DMSO foi acompanhada por absorção (190 – 300 nm) em espectrofotômetro UV-vis Shimadzu UV-1800 (Japão). O material foi seco por liofilização e denominado GCCM-CUR.

Figura 14 – Representação esquemática da síntese (A) e mecanismo da reação de formação (B) do pró-fármaco GCCM-CUR



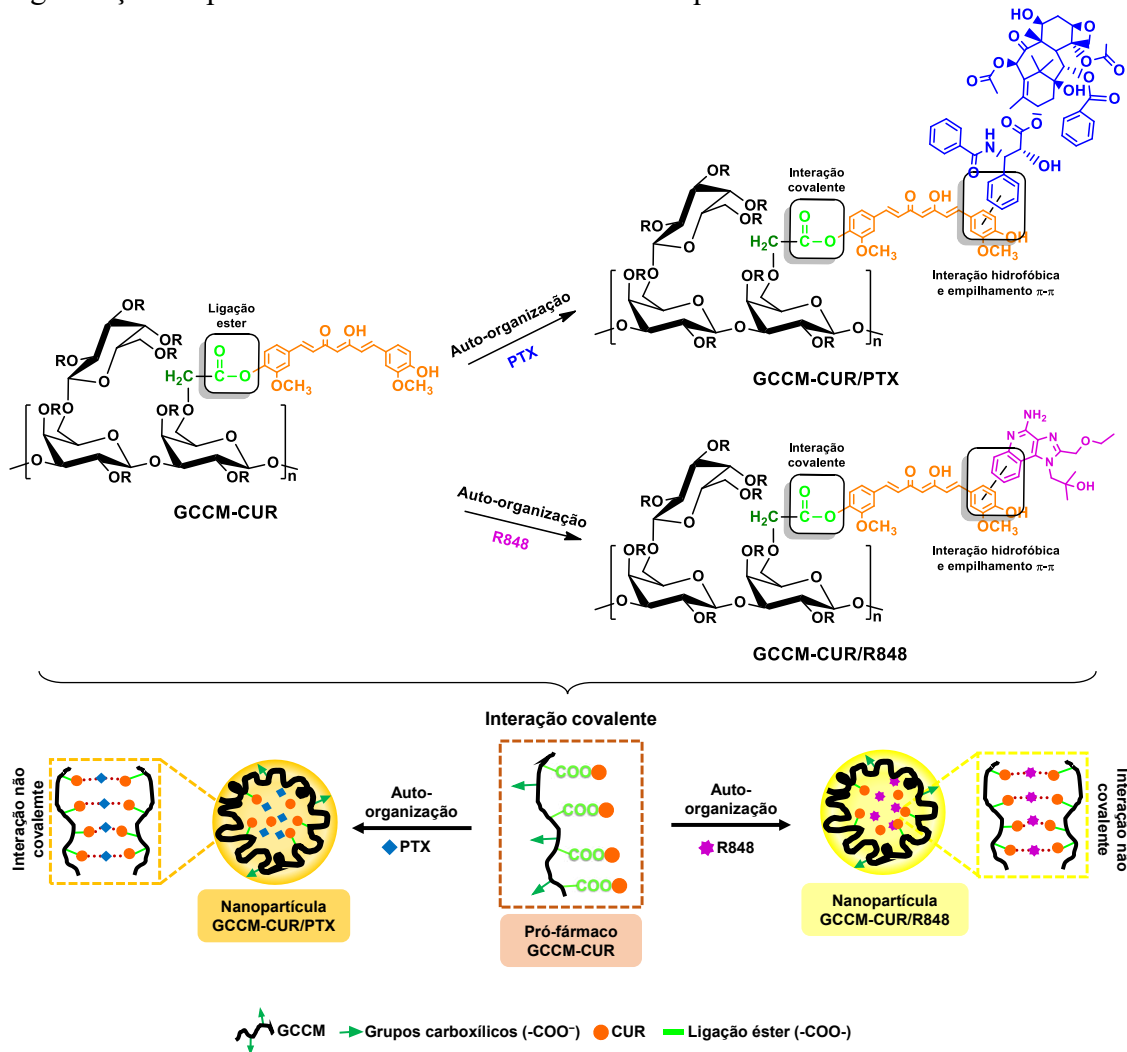
Fonte: elaborada pela autora.

3.5.1 Encapsulamento do fármaco paclitaxel e resiquimod pela auto-organização do pró-fármaco GCCM-CUR

Paclitaxel (PTX) e Resiquimod (R848), que são fármacos hidrofóbicos e contêm estruturas aromáticas, foram encapsulados na GCCM-CUR para formar nanopartículas denominadas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 por meio de interações hidrofóbicas e de empilhamento π - π com a CUR via auto-organização em meio aquoso (Zhuang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2025) (Figura 15).

Soluções do pró-fármaco GCCM-CUR (5 mg mL^{-1}) em DMSO foram preparadas e adicionou-se o PTX (2 mg) e o R848 (2 mg) em soluções separadas. A reação prosseguiu sob agitação magnética por 24 h a temperatura ambiente ($\sim 25 \text{ } ^\circ\text{C}$) na ausência de luz. As soluções resultantes foram dialisadas contra água destilada por 72 h na ausência de luz. A saída do DMSO foi acompanhada por absorção (190 – 300 nm) em espectrofotômetro UV-vis Shimadzu UV-1800 (Japão). Os materiais obtidos foram secos por liofilização.

Figura 15 – Representação esquemática do encapsulamento do PTX e do R848 pela auto-organização do pró-fármaco GCCM-CUR em meio aquoso



Fonte: elaborada pela autora.

3.5.2 Eficiência de fármaco carregado (EFC) e carga de fármaco (CF)

A quantidade de curcumina (CUR) e de resiquimod (R848) presente nos pró-fármacos GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 dissolvidos em DMSO (1 mg mL⁻¹) foi determinada por espectrofotometria na região do UV-visível em $\lambda_{\text{abs}} = 434$ nm para a CUR e em $\lambda_{\text{abs}} = 334$ nm para o R848 utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 (Japão).

A quantidade de paclitaxel (PTX) presente no pró-fármaco GCCM-CUR/PTX foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um cromatógrafo Shimadzu LC-20AD (Japão) acoplado a um detector de fotiodo UV-visível SPD-M20A e uma coluna Phenomenex C18 (5 μm , 250 mm x 4,6 mm). A fase móvel consistiu em uma

mistura de metanol:água (CH₃OH:H₂O; 65:35, v/v) a uma taxa de fluxo de 1,0 mL min⁻¹ a 30 °C (Wang *et al.*, 2017). O detector de UV foi utilizado em um comprimento de onda (λ_{abs}) de 229 nm. A amostra foi preparada em metanol:água (65:35, v/v), filtrada em membrana de ésteres de celulose de 0,45 μm e um volume de 20 μL foi injetado para a análise.

A quantificação dos fármacos foi realizada a partir da aplicação dos valores de absorvância obtido nas curvas de calibração de CUR em DMSO ($R^2 = 0,998$), R848 em DMSO ($R^2 = 0,999$) e de PTX em metanol:água (65:35, v/v) ($R^2 = 0,999$) (APÊNDICE B e C). A EFC e a CF foram calculadas de acordo com as equações 1 e 2, respectivamente.

$$\text{EFC (\%)} = \frac{\text{massa de fármaco nas nanopartículas}}{\text{massa de fármaco adicionado}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{CF (\%)} = \frac{\text{massa de fármaco nas nanopartículas}}{\text{massa de nanopartículas}} \times 100 \quad (2)$$

3.6 Técnicas de caracterização

3.6.1 Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)

A determinação da distribuição de massa molar da goma do cajueiro e da goma do cajueiro carboximetilada foi realizada por SEC em cromatógrafo Shimadzu LC-20AD (Japão) acoplado ao detector de índice de refração (RID-10A). A coluna PolySep-SEC Linear (300 mm x 7,8 mm) foi utilizada como fase estacionária e nitrato de sódio (NaNO₃, 0,1 mol L⁻¹) como eluente, a um fluxo de 1 mL min⁻¹ a 30 °C. Para calibração, foram utilizados padrões de pululana Shodex P-82 (0,59 a 78,8 $\times 10^4$ g mol⁻¹). As amostras (1 mg mL⁻¹) foram preparadas em água deionizada, filtradas em membrana de ésteres de celulose de 0,45 μm e um volume de 50 μL foi injetado para a análise.

Os valores de massa molar de pico (M_{pk}), massa molar ponderal média (\bar{M}_w), massa molar numérica média (\bar{M}_n) e dispersão (\mathcal{D}) para os materiais foram calculados a partir da curva padrão ($R^2 = 0,992$) (equação 3), onde V_e representa o volume de eluição obtido a partir dos cromatogramas de SEC.

$$\log M_{pk} = 14,285 - 1,168V_e \quad (3)$$

3.6.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros de absorção de FT-IR da goma do cajueiro, da goma do cajueiro carboximetilada, dos fármacos e dos pró-fármacos foram obtidos em pastilhas de brometo de potássio (KBr) no espectrofotômetro Shimadzu IR Trace-100 (Japão) na região de 4000 a 400 cm^{-1} , com 64 varreduras sendo realizadas para cada amostra com uma resolução de 4,0 cm^{-1} .

3.6.3 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H)

Os espectros de RMN ^1H da goma do cajueiro, da goma do cajueiro carboximetilada, dos fármacos e dos pró-fármacos foram obtidos em espectrômetro 500 MHz Bruker Avance DRX-500 (Alemanha) a 25 °C, utilizando o 2,2-dimetilsilapentano-5-sulfonato de sódio (DSS) como padrão interno (0,0 ppm). As amostras foram preparadas em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6).

3.6.4 Concentração de agregação crítica (CAC)

A CAC dos pró-fármacos foi determinada por espectroscopia de fluorescência usando pireno como sonda fluorescente (Sarika *et al.*, 2015a). Resumidamente, 30 μL de solução de pireno ($5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em acetona foram adicionados a uma série de frascos de vidro âmbar e a acetona evaporada com fluxo de nitrogênio. Paralelamente, 10 mg dos pró-fármacos foram dispersos em 25 mL de tampão fosfato (pH = 7,4; $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) usando tratamento ultrassônico (VCX-750 ultrasonic) com sonda (20 W, 10 s ativo, 10 s desligado, 1 min, 15 °C). Em seguida, foram diluídos com tampão fosfato (pH = 7,4; $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em concentrações variando de 25 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e adicionados aos frascos com pireno. As soluções resultantes foram mantidas em repouso por 1 hora a 25 °C de modo a atingir o equilíbrio de solubilização do pireno nos domínios hidrofóbicos dos pró-fármacos. A concentração final de pireno em cada frasco foi de $5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Os espectros de fluorescência de excitação ($\lambda = 320\text{-}350 \text{ nm}$) com comprimento de onda de emissão (λ_{ex}) de 374 nm foram obtidos em espectrômetro Shimadzu RF-6000 (Japão). A razão de intensidade (I_{338}/I_{334}) dos espectros de emissão contra a concentração logarítmica dos pró-fármacos foi usada para determinar a CAC. As medidas foram realizadas em cubeta de quartzo, em duplicata e a temperatura ambiente ($\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

3.6.5 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

O tamanho das partículas, o índice de polidispersividade (IPD) e o potencial zeta ($P\zeta$) da goma do cajueiro carboximetilada e das nanopartículas foram determinados por DLS em equipamento Malvern Nano Zeta Sizer ZS-3600 (Reino Unido), com laser no comprimento de onda de 633 nm e ângulo de espalhamento de 173°. As amostras foram dispersas em água deionizada na concentração 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As medidas foram feitas em cubeta de vidro e realizadas em triplicata a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$).

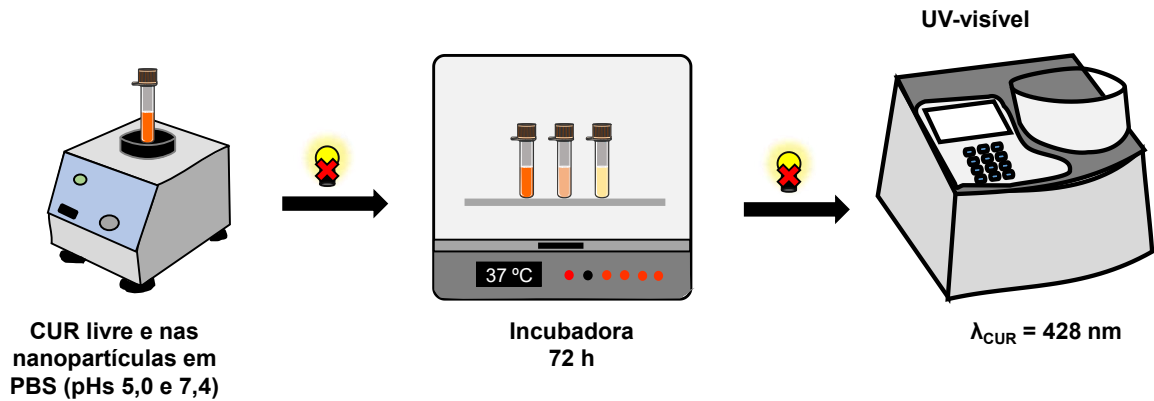
3.6.6 Microscopia de força atômica (AFM)

A morfologia das nanopartículas foi analisada por AFM em equipamento Asylum MFP-3D-Bio (Reino Unido). As imagens foram obtidas em temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) em modo de contato intermitente, utilizando uma ponta micro cantilevers (Econo-TESP) com constante de mola nominal de 40 N/m e frequência de amplitude de 300 kHz. As amostras (200 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram dispersas em água deionizada e uma alíquota de 10 μL de cada amostra foi retirada, depositada sobre uma superfície de mica e seca ao ar livre. As análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Avançada do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará (UFC).

3.7 Estabilidade química da curcumina nas nanopartículas

A estabilidade química da curcumina livre e incorporada nas nanopartículas foi investigada em tampão fosfato (PBS; pH = 5,0 e 7,4; 0,1 mol L^{-1}), através da verificação da mudança do valor da absorvância da curcumina, baseada na metodologia realizada por Luo *et al.* (2017) (Figura 16). Soluções de curcumina livre e das nanopartículas em PBS, com concentração de CUR de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, foram mantidas a 37 $^\circ\text{C}$ e sob agitação constante (75 rpm) utilizando uma incubadora Cientec CT-712R (Brasil). Em intervalos de tempo específico, a absorvância da solução foi analisada por espectrofotometria na região do UV-visível ($\lambda_{\text{abs}} = 428 \text{ nm}$) em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 (Japão). A absorvância em $t = 0$ hora foi considerada como 100%. Devido à baixa solubilidade da CUR em meio aquoso, a CUR livre foi dissolvida em PBS com DMSO 5%.

Figura 16 – Representação esquemática do ensaio de estabilidade química da curcumina



Fonte: elaborada pela autora.

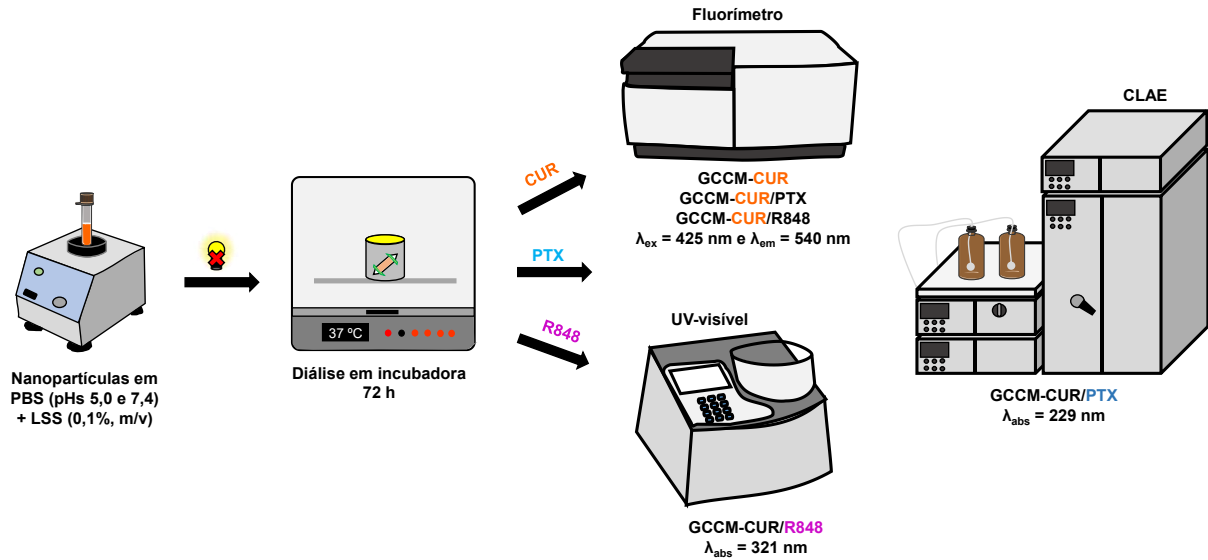
3.8 Ensaios de liberação *in vitro* dos fármacos

A liberação dos fármacos das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR-PTX e GCCM-CUR/R848 foi avaliada em tampão fosfato (PBS; pH = 5,0 e 7,4; $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) contendo lauril sulfato de sódio (LSS; $0,1\% \text{ m/v}$) pelo método de diálise (Figura 17). Resumidamente, os pró-fármacos ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram dispersos em tampão fosfato e transferidos para uma membrana de celulose ($14.000 \text{ g mol}^{-1}$). Em seguida, foram submersos em tampão fosfato e mantidos sob agitação constante (75 rpm) a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 h na ausência de luz utilizando uma incubadora Cientec CT-712R (Brasil). Em determinados intervalos de tempos, 3 mL do meio de liberação foram coletados e substituídos imediatamente por igual volume de tampão recém preparado. A quantidade de CUR liberada foi determinada por espectroscopia de fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 425 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}} = 540 \text{ nm}$) utilizando curva de calibração em PBS pH 5,0 ou 7,4 contendo LSS $0,1\% \text{ (m/v)}$ (APÊNDICE B). A quantidade de PTX foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência ($\lambda_{\text{abs}} = 229 \text{ nm}$) utilizando curva de calibração em metanol:água (65:35) (APÊNDICE B). A quantidade de R848 foi determinada por espectroscopia UV-visível ($\lambda_{\text{abs}} = 321 \text{ nm}$) utilizando curva de calibração em PBS pH 5,0 ou 7,4 contendo LSS $0,1\% \text{ (m/v)}$ (APÊNDICE C). O valor obtido foi convertido em porcentagem de fármaco liberado de acordo com a equação 4.

$$\text{Porcentagem de fármaco liberado} = \frac{M_t}{M_0} \times 100\% \quad (4)$$

onde, M_t é a quantidade de fármaco liberado no tempo t e M_0 é a quantidade inicial de fármaco no pró-fármaco.

Figura 17 – Representação esquemática dos ensaios de liberação *in vitro* dos fármacos das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848



Fonte: elaborada pela autora.

3.8.1 Mecanismo de liberação dos fármacos

Os modelos de cinética de liberação podem ser utilizados para ilustrar a liberação de fármacos a partir de nanocarreadores, como os mecanismos cinéticos regulados pela difusão do fármaco através de uma matriz transportadora e pela perda da ligação fármaco-matriz (Son; Lee; Cho, 2017).

O mecanismo de liberação dos fármacos das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foi estudado utilizando o modelo cinético de Zeng, An e Wu (2011). Esse modelo é utilizado para analisar a liberação de fármacos covalentemente ligados a matriz a partir da quebra da ligação fármaco-matriz através de estímulos externos como o pH. Esse modelo descreve sistemas de liberação onde dois mecanismos (difusão rápida e associação/dissociação lenta) são observados em função do tempo. O modelo assume uma exponencial de segunda ordem de acordo com a equação 5.

$$\frac{M_t}{M_0} = \frac{k_{off}}{k_{on} + k_{off}} (1 - e^{-k_s t}) + \frac{k_{on}}{k_{on} + k_{off}} (1 - e^{-k_{off} t}) \quad (5)$$

onde k_s corresponde a taxa de difusão, k_{on} a taxa de associação do fármaco e k_{off} a taxa de dissociação do fármaco.

A diferença de energia livre (ΔG) entre os estados do fármaco livre e ligado (equação 6) pode ser usada para determinar a quantidade de fármaco inicialmente livre e ligado à matriz. O valor de ΔG foi obtido a partir da equação 6.

$$\Delta G = -K_B T \ln \left(\frac{k_{on}}{k_{off}} \right) \quad (6)$$

onde K_B ($1,380649 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$) é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta (310 K).

Neste estudo, todos os parâmetros (ΔG , k_s , k_{on} e k_{off}) foram utilizados para descrever o mecanismo de liberação cumulativa do fármaco. Os valores de k_s , k_{on} e k_{off} foram obtidos aplicando a equação 5 nas curvas de liberação dos fármacos utilizando o programa Origin 8.5.

3.9 Ensaios celulares *in vitro*

3.9.1 Cultivo celular

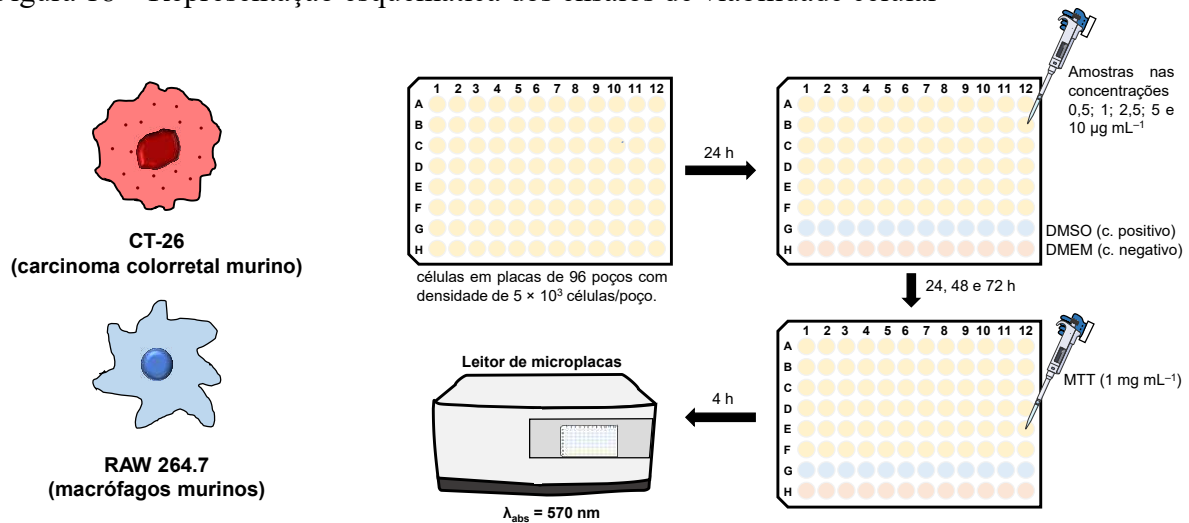
As linhagens celulares CT-26 (carcinoma colorretal murino) e RAW 264.7 (macrófagos murinos) foram obtidas da American Type Culture Collection. O meio de cultura Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado com antibióticos (estreptomicina/penicilina ou anfotericina) e 10% de soro fetal bovino (SFB) foi utilizado para o cultivo, e as células foram mantidas em incubadora umidificada a 37 °C com atmosfera de 5% de CO₂. As células foram repicadas 3 vezes por semana, removendo-se as células aderentes com tripsina/EDTA em PBS para as células CT-26 e desalojando-as do substrato do frasco com um raspador de células para as células RAW 264.7 (Araújo Júnior *et al.*, 2023). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Investigação do Câncer e Inflamação (LAICI) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

3.9.2 Ensaios de viabilidade celular

A viabilidade e a taxa de proliferação das linhagens celulares foram determinadas através de um ensaio colorimétrico baseado na redução do sal de tretazólio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) em cristais de formazan ((E,Z-1-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difenilformazan) por células metabolicamente viáveis. As células CT-26

e RAW 264.7 foram dispostas em placas de 96 poços com densidade de 5×10^3 células/poço. Após 24 h em condições de cultura, foi realizada a aplicação das amostras em concentrações de 0,5; 1; 2,5; 5 e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Alguns poços também foram utilizados para controle positivo (DMSO à 25% v/v) e negativo (DMEM) do experimento. Após o processo de tratamento (24, 48 e 72 h), adicionou-se a solução de MTT (1 mg mL^{-1}) e incubou-se por 4 h. A absorbância ($\lambda_{\text{abs}} = 570 \text{ nm}$) foi obtida em leitor de microplacas (Epoch - BioTek Instruments, EUA), com o uso do software Gen5 Data Analysis versão 2.0 (BioTek Instruments, EUA) (Figura 18) (Carvalho *et al.*, 2023; Rokhgireh *et al.*, 2025). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Investigação do Câncer e Inflamação (LAICI) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

Figura 18 – Representação esquemática dos ensaios de viabilidade celular



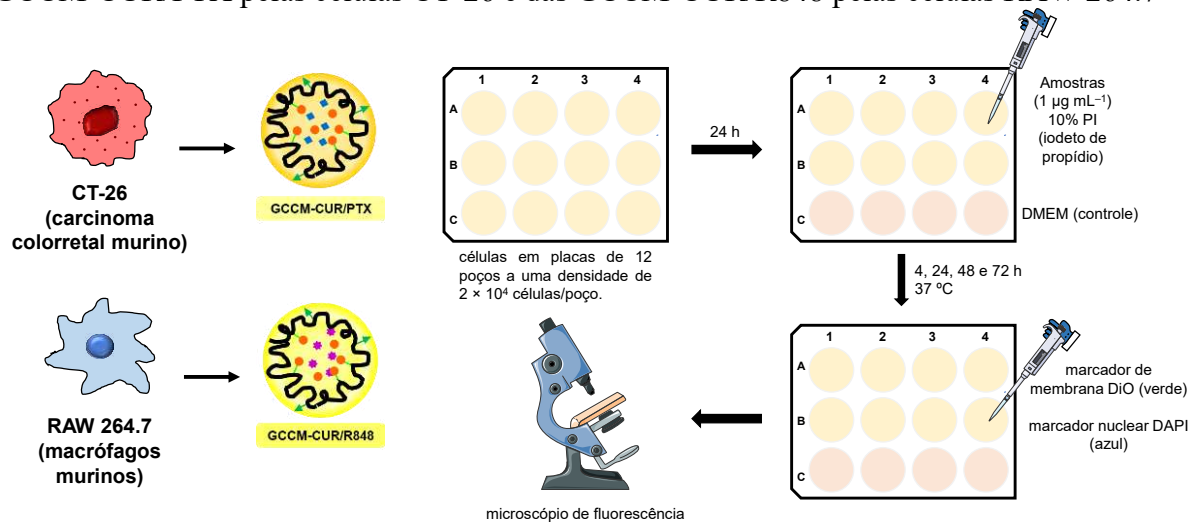
Fonte: elaborada pela autora.

3.9.3 Ensaios de captação celular (Uptake)

A captação e internalização da GCCM e das nanopartículas (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX) pelas linhagens celulares CT-26 e da GCCM e da nanopartícula (GCCM-CUR/R848) pelas células RAW 264.7 foi obtida através do ensaio de *Uptake* celular (Souza *et al.*, 2025). As células foram plaqueadas a uma densidade de 2×10^4 células/poço sob lamínulas de vidro (12 mm), em placas de 12 poços. Após 24 h de adesão, foi realizado o tratamento com DMEM (controle) e as nanopartículas na dose de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, previamente marcadas com 10% de PI (iodeto de propídio), por 4, 24, 48 e 72 h à $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em estufa úmida. Após cada tempo, as células foram marcadas com o marcador de membrana DiO (Vybrant DiO cell-labeling solution - Thermo Fischer) e com o marcador nuclear DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole - ABCAM).

Para a visualização das nanopartículas (vermelho), membrana celular (verde) e núcleo (azul), foi utilizado o microscópio de fluorescência Axio Observer.Z1 Zeiss (Alemanha) equipado com câmera digital AxioCam MRc (Carl Zeiss) (Figura 19). As imagens foram adquiridas, analisadas e armazenadas utilizando o software Zeiss ZEN lite blue edition (Carl Zeiss). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Investigação do Câncer e Inflamação (LAICI) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

Figura 19 – Representação esquemática dos ensaios de captação celular das nanopartículas GCCM-CUR/PTX pelas células CT-26 e das GCCM-CUR/R848 pelas células RAW 264.7



Fonte: elaborada pela autora.

3.9.4 Análises estatísticas

Os experimentos com células *in vitro* foram realizados em triplicata. O teste de Tukey e a análise de variância (ANOVA) foram utilizados para calcular as diferenças significativas entre os grupos. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$ e $p < 0,0001$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização da GC e GCCM

Os dados de rendimento e teor de grupos ácido da GC e GCCM estão reportados na Tabela 2. Observa-se um baixo rendimento reacional na síntese do derivado carboximetilado, o que pode estar relacionado à reatividade da modificação química, levando a degradação da cadeia do polissacarídeo por hidrólise básica durante a reação (Guan *et al.*, 2025). Baixo valor de rendimento após modificação química por reação de carboximetilação foi obtido para polissacarídeos extraídos do limão *Citrus limon* L. (22,3%) (Wu *et al.*, 2025b), de orquídea terrestre *Gastrodia elata* (36,3%) (Guan *et al.*, 2025) e do cogumelo *Calocybe indica* (39,1%) (Nataraj *et al.*, 2022).

Apesar do baixo rendimento reacional obtido, a reação se mostrou eficiente para introduzir grupos ácido na estrutura da GC, visto que o teor desses grupos no derivado GCCM (44%) foi de aproximadamente 9 vezes maior que o teor de grupos ácido da GC (5%) (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores de rendimento de isolamento e da reação de carboximetilação (Rend), teor de grupos ácido, massa molar de pico (M_{pk}), massa molar ponderal média (\bar{M}_w), massa molar numérica média (\bar{M}_n) e dispersão (\mathcal{D}) para a GC e GCCM

Amostras	Rend (%)	Teor de grupos ácido (%)	$M_{pk}/10^4$ (g mol ⁻¹)	$\bar{M}_w/10^4$ (g mol ⁻¹)	$\bar{M}_n/10^3$ (g mol ⁻¹)	\mathcal{D} (M_w/M_n)
GC	74,0 ± 8	5,0 ± 0,2	2,2	2,1	4,2	5,0
GCCM	13,0 ± 1	44,0 ± 1,0	1,4	1,1	3,2	3,4

Fonte: dados da pesquisa.

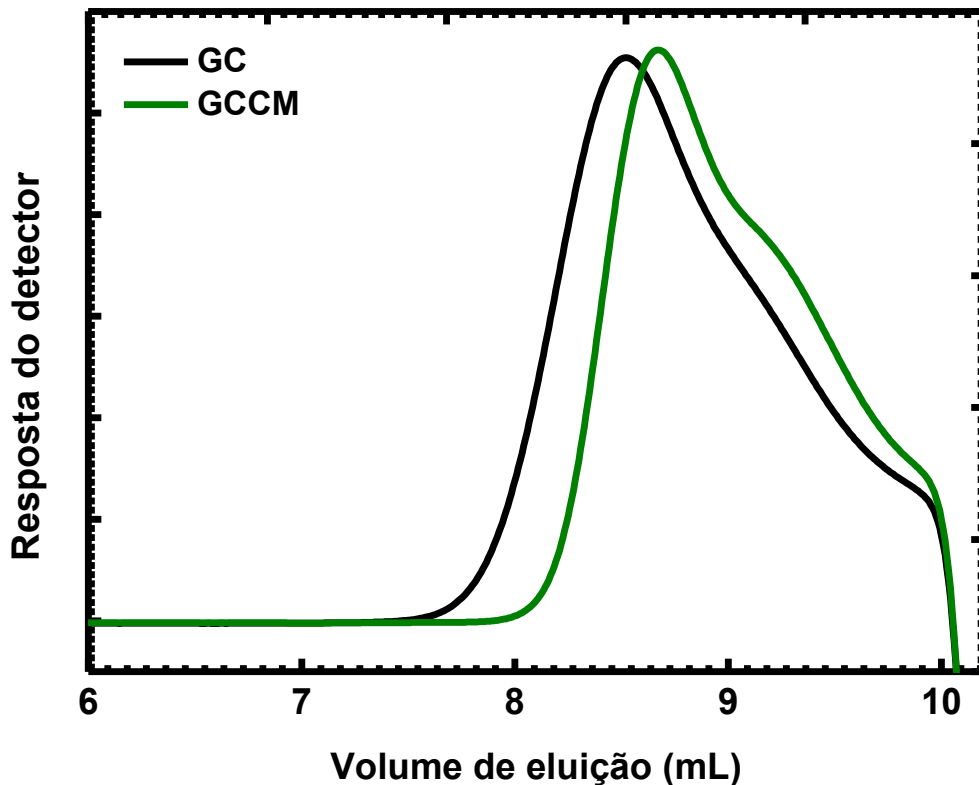
4.1.1 Cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)

A SEC é frequentemente usada para determinar a massa molar com base na retenção das moléculas em fases estacionárias porosas. A determinação da massa molar média é realizada através de um processo de calibração, em que uma série de polímeros padrão com massa molar conhecida são eluídos e uma curva de calibração é obtida pelo seu volume ou tempo de retenção. As propriedades de retenção da amostra desconhecida são então comparadas com os dados de calibração para determinar a massa molar média da molécula investigada (Sepseya; Bacskay; Felinger, 2014).

A massa molar de pico (M_{pk}), massa molar ponderal média (\bar{M}_w), massa molar numérica média (\bar{M}_n) e dispersão (\mathcal{D}) da GC e GCCM foram estimadas por SEC e estão apresentadas na Figura 20 e Tabela 2.

Nos cromatogramas, observa-se um deslocamento do volume de eluição da GCCM para a direita em relação a GC, indicando uma redução na massa molar do derivado carboximetilado, bem como observado nos valores de M_{pk} , \bar{M}_w e \bar{M}_n (Tabela 2). Essa redução está relacionada a base NaOH em alta concentração (10 mol L^{-1}) utilizado na reação de carboximetilação, que pode ocasionar a quebra da ligação glicosídica entre os monossacarídeos por hidrólise básica (Silva *et al.*, 2004).

Figura 20 – Cromatogramas de distribuição de massa molar por SEC para GC e GCCM

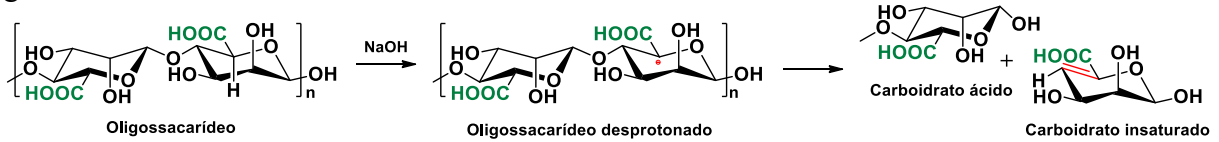


Fonte: dados da pesquisa.

A despolimerização de polissacarídeos em meio alcalino ocorre principalmente via processo de β -eliminação. A reação acontece preferencialmente em condições alcalinas e na presença de grupos ácido carboxílico, aldeído ou éster no carbono-6 da unidade do polissacarídeo. O hidrogênio no carbono-5 tem sua acidez aumentada pela presença de um desses grupos, seguido da desprotonação durante a reação em meio alcalino. Uma ligação dupla entre o carbono-4 e o carbono-5 da unidade do polissacarídeo é formada e a ligação entre o

oxigênio glicosídico e o carbono-4 é clivada (Stone *et al.*, 2008). Tem-se como produtos um carboidrato ácido e um carboidrato insaturado (Figura 21).

Figura 21 – Representação dos produtos da β -eliminação para um oligossacarídeo do ácido galacturônico



Fonte: Stone *et al.* (2008, com adaptações).

O processo de despolimerização da GC durante a reação de carboximetilação pode ocorrer tanto na cadeia principal da galactose (1 \rightarrow 3) quanto nas ramificações de galactose (1 \rightarrow 6) (Figura 7C). No entanto, a reação de carboximetilação com o ácido monocloroacético ocorre via substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), logo a hidroxila do carbono-2 da galactose 1 \rightarrow 3 não reage com o ácido monocloroacético devido ao impedimento estérico promovido pelas cadeias laterais presentes na estrutura da GC. Deste modo, infere-se que o processo de despolimerização durante a modificação química ocorre preferencialmente nas ramificações de galactose. Com isto, conclui-se que a reação de carboximetilação da GC ocasiona na despolimerização do polissacarídeo via β -eliminação produzindo o derivado carboximetilado (GCCM, produto principal) e o carboidrato insaturado como subproduto que é eliminado no processo de diálise (Figura 21).

A dispersão de uma amostra de polímero é definida como a razão entre a massa molar ponderal média (\bar{M}_w) e a massa molar numérica média (\bar{M}_n) ($\mathcal{D} = \bar{M}_w/\bar{M}_n$). A dispersão fornece uma indicação da faixa de massa molar do polímero. Quanto mais ampla for a distribuição da massa molar, maior será a dispersão (Gavrilov; Monteiro, 2015). Polímeros que apresentam valores de $\bar{M}_w/\bar{M}_n \approx 1$ são ditos monodispersos, onde todas as cadeias têm comprimentos iguais. Já polímeros que apresentam valores de $\bar{M}_w/\bar{M}_n > 1$ são considerados polidispersos e apresentam cadeias de tamanhos variados (Agilent Technologies, 2015).

O menor valor de dispersão (\mathcal{D}) (Tabela 2) observado para a GCCM em relação a GC indica a degradação das cadeias maiores durante a reação de carboximetilação, levando o polissacarídeo a apresentar comprimentos de cadeias mais homogêneas.

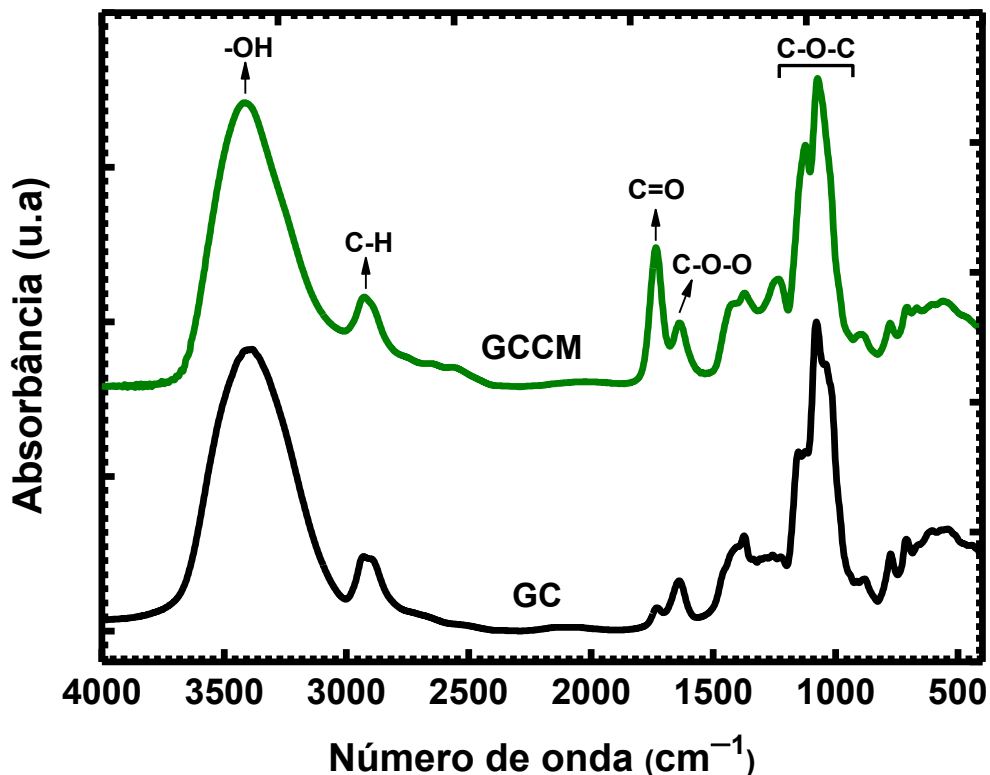
4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

A identificação dos grupos funcionais presentes na goma do cajueiro (GC) e na goma do cajueiro carboximetilada (GCCM), ambas na forma ácida, foi analisada por FT-IR e os espectros estão apresentados na Figura 22.

No espectro da GC e GCCM, observam-se as bandas em 3458 e 2926 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos vibracionais das ligações O-H e C-H, respectivamente. Na GC, a banda em 1735 cm^{-1} deve-se à vibração de estiramento C=O do grupo carboxila do ácido glucurônico e em 1639 e 1415 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento assimétrico e simétrico dos ânions carboxilatos (COO^-), respectivamente. As bandas na região entre 1145 e 1030 cm^{-1} estão relacionadas aos modos de estiramento C-O-C das ligações glicosídicas (de Paula *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2004).

No espectro da GCCM, observa-se o aumento da intensidade da banda em 1735 cm^{-1} , atribuída à carbonila (C=O) de grupos ácido. Esse aumento substancial na absorbância está relacionado à introdução de grupos carboxílicos após a modificação química com ácido monocloroacético (Silva *et al.*, 2004; Melo *et al.*, 2020).

Figura 22 – Espectros de absorção de FT-IR para a GC e GCCM na forma ácida na faixa de frequência de 4000-400 cm^{-1}

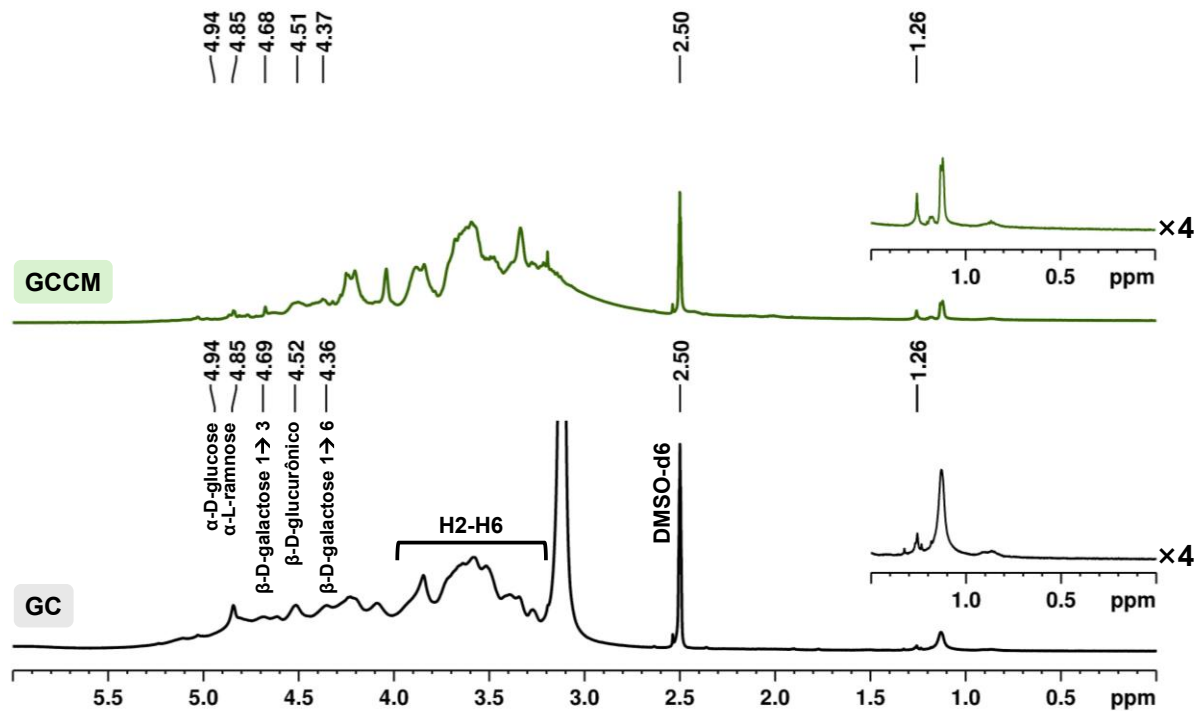


Fonte: dados da pesquisa.

4.1.3 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H)

Os espectros de RMN ^1H para a GC e GCCM estão apresentados na Figura 23. Observa-se nos espectros na região entre δ 4,36 e 4,95 ppm os sinais dos prótons anoméricos (H1) das unidades α -D-glucose (δ 4,95 ppm), α -L-ramnose (δ 4,85 ppm), β -D-galactose (1 \rightarrow 3) (δ 4,69 ppm), ácido β -D-glucurônico (δ 4,52 ppm) e β -D-galactose (1 \rightarrow 6) (δ 4,36 ppm). Os sinais dos demais prótons (H2-H6) das unidades monossacarídicas e os prótons metilênicos (CH_2) do grupo carboximetil ($-\text{CH}_2\text{COOH}$) estão localizados na região em δ 3,40-4,00 ppm. O sinal em δ 1,26 ppm é atribuído aos prótons do grupo metila (CH_3) da ramnose e o sinal em δ 2,50 ppm corresponde ao solvente (DMSO- d_6) (Maciel *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2021).

Figura 23 – Espectros de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6 , 70 °C) para a GC e GCCM



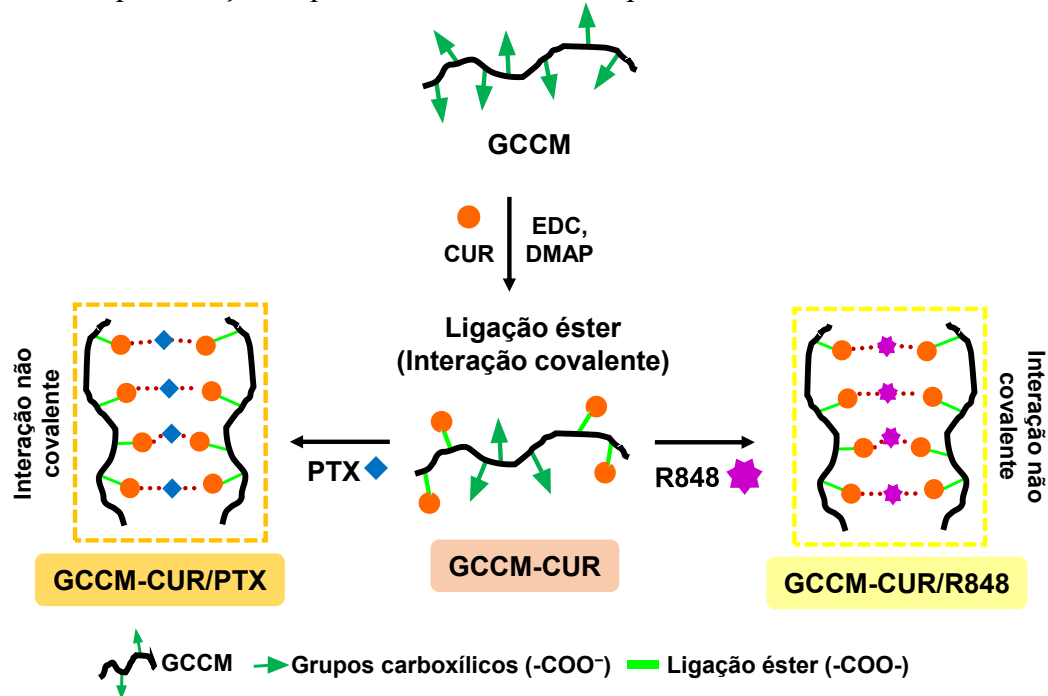
Fonte: dados da pesquisa.

4.2 Síntese e caracterização dos pró-fármacos

A síntese do pró-fármaco GCCM-CUR via reação de esterificação foi realizada utilizando os grupos ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) da GCCM e o grupo hidroxila ($-\text{OH}$) da CUR, formando a ligação éster ($-\text{COO}-$). O paclitaxel (PTX) e o resiquimod (R848), que contêm anéis aromáticos em sua estrutura, foram encapsulados ao pró-fármaco GCCM-CUR por meio de

interações não covalentes, como interações hidrofóbicas e de empilhamento π - π , com a CUR via auto-organização em meio aquoso (Figura 15 e 24) (Li *et al.*, 2025).

Figura 24 – Representação esquemática da síntese dos pró-fármacos



Fonte: dados da pesquisa.

A determinação da eficiência de fármaco carregado (EFC) e a carga de fármaco (CF) da CUR e R848 nos pró-fármacos GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foi feita por espectroscopia UV-vis, e para o PTX, por CLAE. Os valores estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 – Dados de rendimento reacional (Rend), eficiência de fármaco carregado (EFC) e carga de fármaco (CF) para os pró-fármacos

Pró-fármacos	Rend (%)	EFC (%)			CF (%)		
		CUR	PTX	R848	CUR	PTX	R848
GCCM-CUR	46 ± 2	46 ± 14	-	-	7 ± 2	-	-
GCCM-CUR/PTX	77 ± 3	-	43 ± 1	-	3 ± 1	7 ± 1	-
GCCM-CUR/R848	60 ± 3	-	-	55 ± 1	2 ± 1	-	9 ± 1

Fonte: dados da pesquisa.

A CF de CUR no pró-fármaco GCCM-CUR (7%) foi maior do que os obtidos para os conjugados goma arábica-CUR (1,3%) (Sarika *et al.* 2015a), alginato-CUR (3,0%) (Sarika *et al.* 2016) e pululana-CUR (3,5%) (Sarika *et al.* 2015b), pela reação de acoplamento DCC/DMAP. Os valores de EFC do presente trabalho foram superiores ao obtido para o pró-

fármaco hidroxietilamido-CUR (EFC para CUR de 13,28%) pela reação de acoplamento EDC/DMAP (Chen *et al.*, 2020b). Phan *et al.* (2018) utilizaram o polissacarídeo fucoidan funcionalizado com larginina e ácido levulínico para conjugar PTX/CUR via ligação éster utilizando a reação de acoplamento DCC/DMAP. Os valores de EFC para CUR variaram de 0,59 a 1,12%, enquanto para o PTX entre 0,25 e 0,59%, bastante inferiores ao obtido neste trabalho. Valores elevados de EFC (76,5%) e CF (31,4%) para a CUR foram obtidos por Sauraj *et al.* (2020) para xilana-CUR pela reação de acoplamento DCC/DMAP, no qual a massa de curcumina utilizada foi 432 vezes maior que do presente trabalho.

O encapsulamento de PTX por interação hidrofóbica em micelas de pró-fármaco conjugado de plurônico F127-quitosana-DOX (Ma *et al.*, 2016) e em micelas de capsaicina conjugada com polietilenoglicol (Lan *et al.*, 2019) apresentaram valores de CF de 3,94% e 5,53%, respectivamente, valor inferior ao obtido neste trabalho para o PTX encapsulado na nanopartícula GCCM-CUR/PTX (7%).

Em relação ao encapsulamento do R848, o pró-fármaco GCCM-CUR foi aproximadamente 3 e 7 vezes mais eficiente no encapsulamento do que os sistemas de nanopartículas de PLGA (poli(ácido D,L-láctico-co-glicólico)) (3,11%) (Yuan *et al.*, 2024) e nanopartículas de ácido polilático (1,2%) (Thauvin *et al.*, 2019), respectivamente. Valor similar de CF (9,4%) foi obtido para nanopartículas de copolímero de glicol quitosana-polianilina (Chen *et al.*, 2020a). Considerando os valores de EFC e CF obtidos neste trabalho em relação aos reportados na literatura, pode-se inferir que as nanopartículas poliméricas deste trabalho foram mais eficientes como carreadores de CUR, PTX e R848.

4.2.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

A identificação dos grupos funcionais presentes nos fármacos (CUR, PTX e R848) e nos pró-fármacos GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foram analisadas por FT-IR e os espectros estão apresentados na Figura 25.

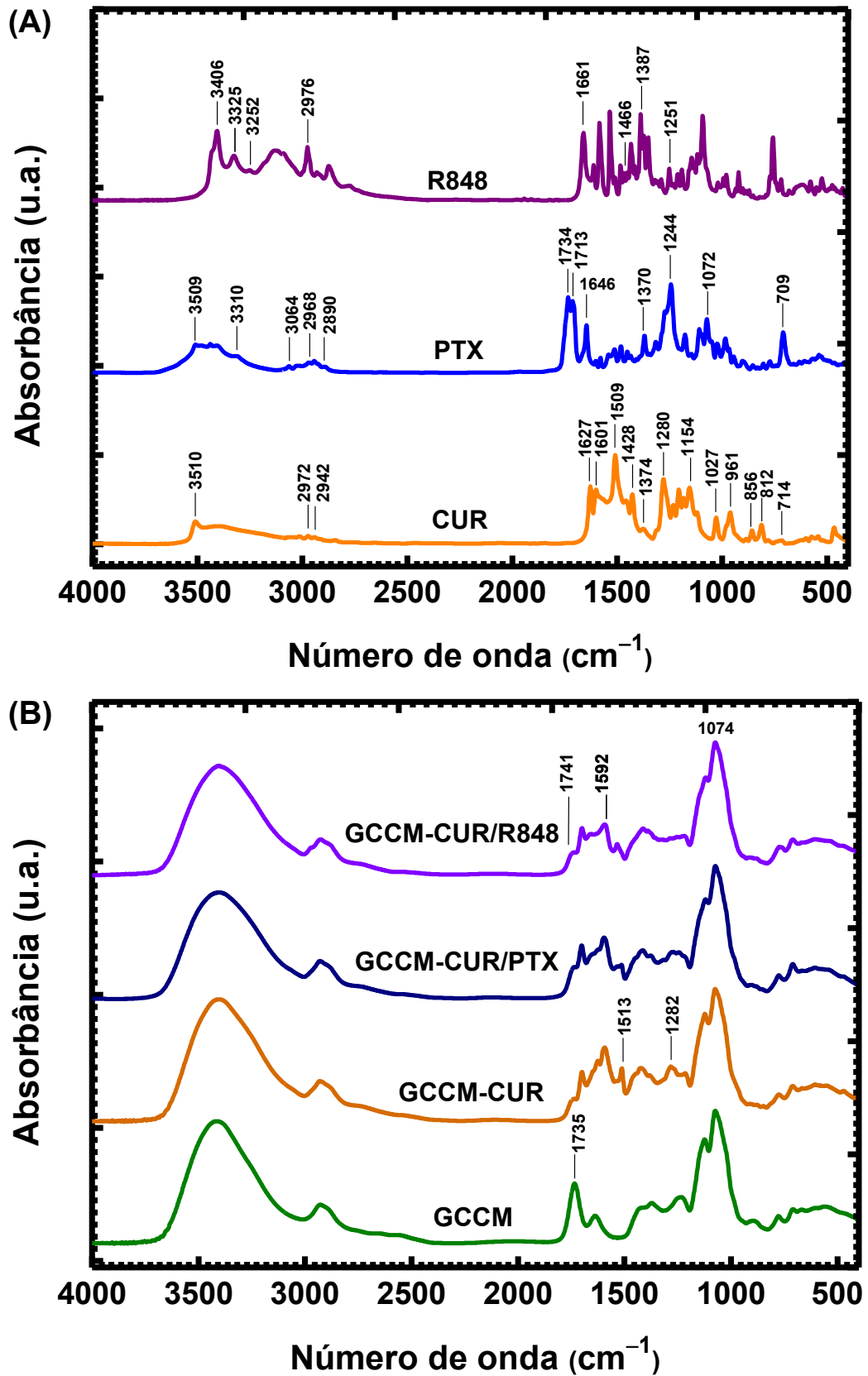
No espectro da curcumina (CUR) (Figura 25A), observam-se as bandas características em 3510 cm^{-1} (estiramento O-H fenólico), 2972 cm^{-1} (estiramento assimétrico CH da CH_3), 2942 cm^{-1} (estiramento CH da OCH_3), 1627 cm^{-1} (estiramentos C=C e C=O), 1601 cm^{-1} (estiramento C=C do anel aromático), 1509 cm^{-1} (estiramento C=O), 1428 cm^{-1} (flexão C-H), 1280 cm^{-1} (estiramento enol C-O), 1027 cm^{-1} (estiramento C-O-C), 961 cm^{-1} (vibração trans CH do anel aromático), 812 cm^{-1} (estiramento do anel fenil C- OCH_3) e 714 cm^{-1} (vibração cis CH do anel aromático) (Santos *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2023).

No espectro do paclitaxel (PTX) (Figura 25A), observam-se os picos característicos em $3509-3310\text{ cm}^{-1}$ (estiramento O-H e N-H), 3064 cm^{-1} (estiramento C=C-H aromático), $2968-2890\text{ cm}^{-1}$ (estiramento simétrico e assimétrico CH_2), $1734-1713\text{ cm}^{-1}$ (estiramento C=O do grupo éster), 1646 cm^{-1} (estiramento C-C/flexão N-H), 1370 cm^{-1} (flexão CH_3), 1244 cm^{-1} (estiramento C-N), 1072 cm^{-1} (estiramento C-O) e 709 cm^{-1} (flexão C=C-H) (Wang *et al.*, 2017; Sakhi *et al.*, 2022).

No espectro do resiquimod (R848) (Figura 25A), observam-se os picos característicos em $3400-3200\text{ cm}^{-1}$ (estiramento O-H e N-H), 2976 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 1661 cm^{-1} (estiramento C=N de imina), 1466 cm^{-1} (dobramento N-H), 1387 cm^{-1} (estiramento CH_2), 1251 cm^{-1} (estiramento CH_3) e 919 cm^{-1} (estiramento C-O-C) (Jadhav *et al.*, 2024).

Nos espectros dos pró-fármacos (Figura 25B), observam-se picos característicos da curcumina em 1592 cm^{-1} (estiramento C=C do anel aromático), 1513 cm^{-1} (estiramento C=O) e 1282 cm^{-1} (estiramento enol C-O) e do polissacarídeo. Além disso, observou-se uma mudança no perfil da banda C=O (1741 cm^{-1}) dos grupos ácido da GCCM, o que pode indicar que esses grupos foram consumidos durante a reação de esterificação com os grupos hidroxila (OH) da CUR. Este resultado sugere a existência de uma ligação covalente entre a GCCM e a CUR. Os picos característicos do PTX e R848 não foram observados e podem ter sido sobrepostos pelas bandas do polissacarídeo e da CUR, como também devido ao baixo valor de carga de fármaco nos pró-fármacos em relação ao polissacarídeo.

Figura 25 – Espectros de absorção de FT-IR para os fármacos (CUR, PTX e R848) (A) e para a GCCM e os pró-fármacos (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) (B) na faixa de frequência de 4000-400 cm^{-1}



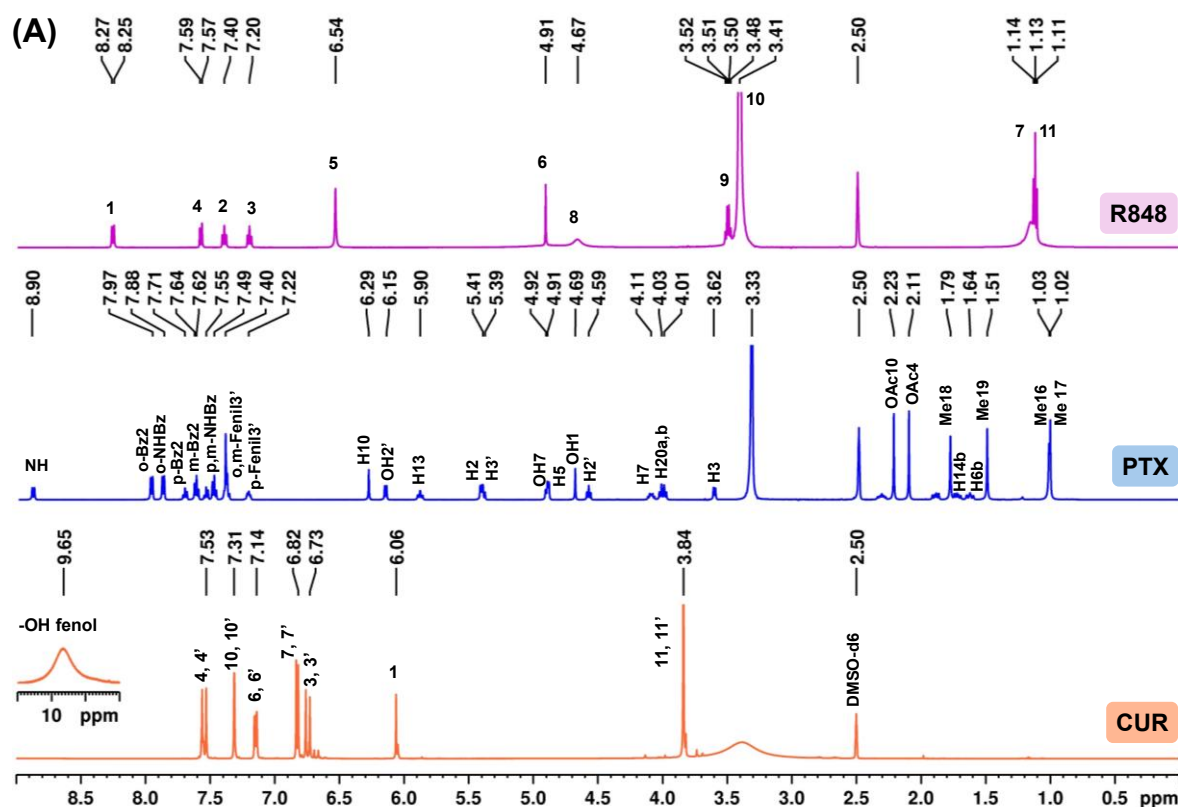
Fonte: dados da pesquisa.

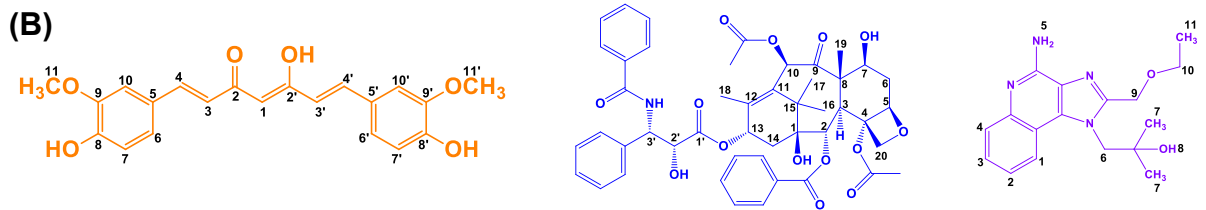
4.2.2 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H)

Na Figura 26 e 27 encontram-se os espectros de RMN ^1H para os fármacos (CUR, PTX e R848) e os pró-fármacos GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848, respectivamente.

Nos espectros dos fármacos (Figura 26), observam-se os sinais relativos aos prótons presentes em cada molécula. No espectro da CUR, na região entre δ 6,00 e 7,60 ppm observam-se os sinais relativos aos prótons vinílicos e em δ 3,84 ppm ao próton singlete dos grupos metoxi (-OCH₃) (Sarika *et al.*, 2015). No espectro do PTX, entre δ 1,00-1,80 ppm e δ 7,00-8,00 ppm observam-se os sinais relativos aos prótons dos grupos metila e dos aromáticos, respectivamente. Os grupos acetóxi são observados em δ 2,11 e 2,23 ppm e os demais prótons da estrutura do fármaco são observados na região entre δ 3,60 e 6,30 ppm (Kanwal *et al.*, 2021). No espectro do R848, são observados os prótons dos grupos metila em δ 1,13 e 1,14 ppm, os prótons alifáticos entre δ 3,30 e 5,00 ppm e os prótons aromáticos entre δ 7,20 e 8,30 ppm (Chen *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2026).

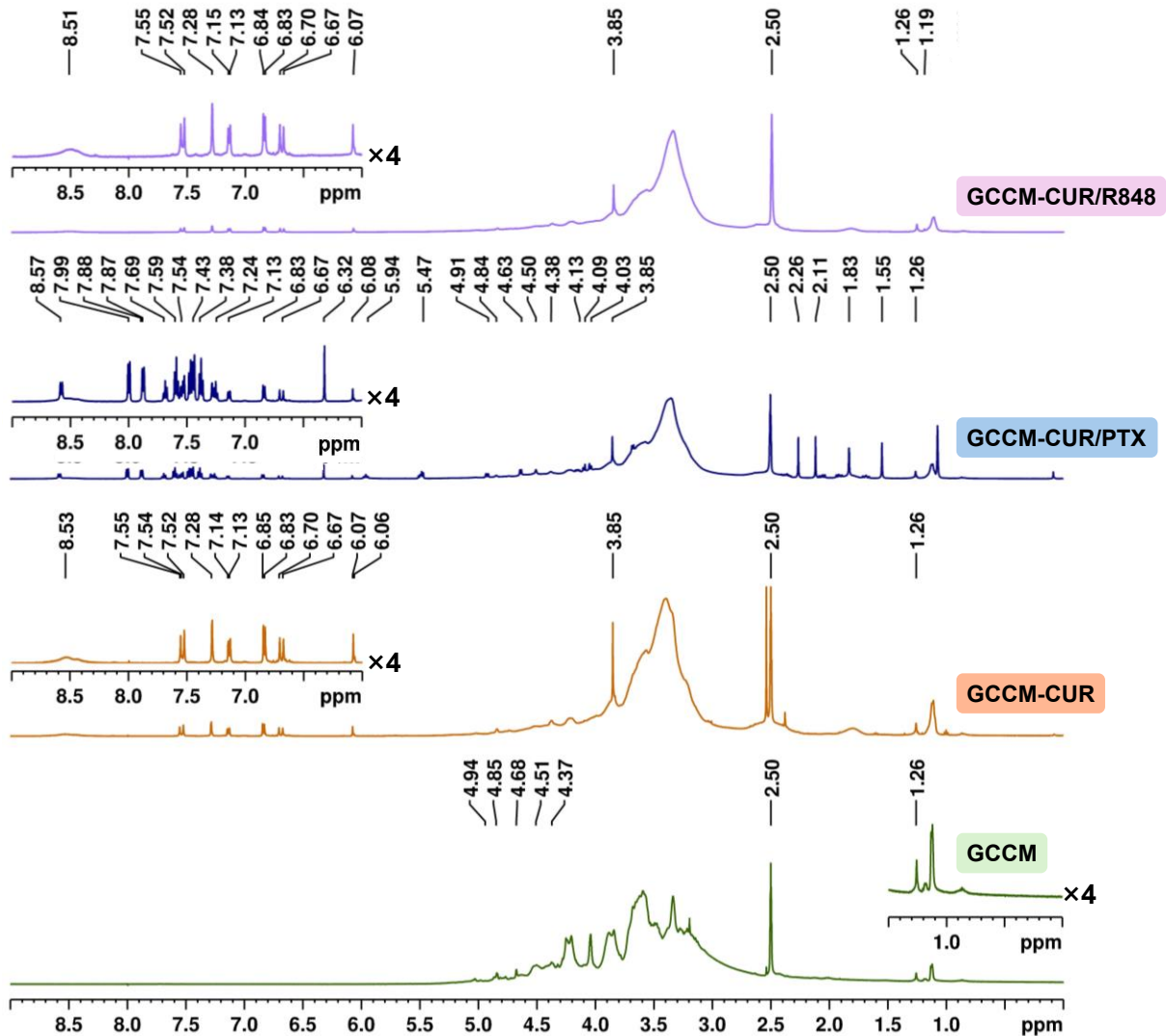
Figura 26 – Espectros de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d₆) para os fármacos (CUR, PTX e R848) a 25 °C (A) e estrutura química dos fármacos com os prótons sinalizados (B)





Fonte: dados da pesquisa.

Figura 27 – Espectros de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) para a GCCM e os pró-fármacos (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) a 70 °C



Fonte: dados da pesquisa.

Nos espectros dos pró-fármacos GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 (Figura 27), observam-se os picos característicos da GCCM na região entre δ 3,00 e 4,90 ppm e novos sinais entre δ 5,50 e 8,60 ppm atribuídos aos prótons dos fármacos, além do pico em δ 3,85 ppm atribuído ao próton singlete (-OCH₃) da CUR (Sarika *et al.*, 2015) e entre δ 1,50 e 2,30 ppm característicos do PTX (Kanwal *et al.*, 2021). Os sinais do R848 não foram observados, podendo ter sido sobrepostos pelos sinais da CUR. O aparecimento desses

novos sinais confirma a eficiência da síntese dos pró-fármacos. O sinal em δ 2,50 ppm corresponde ao solvente (DMSO-d₆).

4.2.3 Concentração de agregação crítica (CAC)

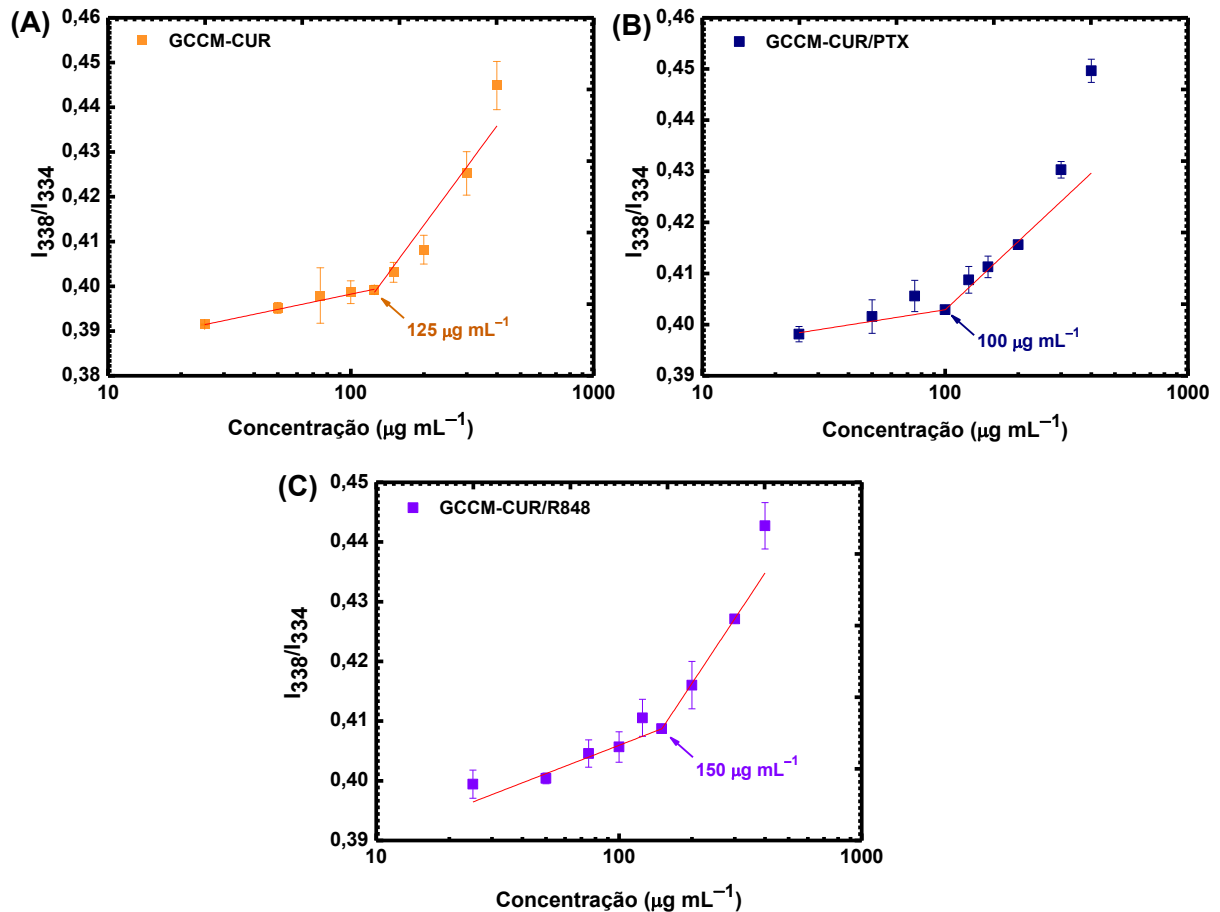
A CAC é a concentração mínima na qual polímeros anfífilos se auto-organizam, formando, por exemplo, nanopartículas. Valores baixos de CAC garantem que as nanopartículas permaneçam formadas em condições diluídas (Polat; Kutluay; Polat, 2020; Sauraj *et al.*, 2020).

O comportamento de auto-organização em nanopartícula dos pró-fármacos GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foi investigado determinando a CAC usando pireno como uma sonda fluorescente hidrofóbica. O pireno tem baixa solubilidade em água e apresenta sensibilidade as mudanças de polaridade do meio circundante (Kalyaanandaram; Thomas, 1977). Os espectros de excitação das nanopartículas foram registrados e a razão de intensidade I_{338}/I_{334} foi avaliada em função do logaritmo da concentração dos pró-fármacos (Figura 28).

Um aumento na intensidade de fluorescência com o aumento da concentração dos pró-fármacos foi observado e a CAC foi estimada a partir da intersecção entre as retas apresentadas nos espectros (Figura 28). A alteração na razão I_{338}/I_{334} do pireno em soluções aquosas de nanopartículas reflete a mudança na micropolaridade, sugerindo a partição do pireno entre o meio aquoso e hidrofóbico (Laskar *et al.*, 2014). Em baixas concentrações têm-se um ambiente polar aquoso. Em altas concentrações têm-se um microambiente menos polar, relativo aos sítios hidrofóbicos (núcleo da nanopartícula) em que as moléculas de pireno são preferencialmente solubilizadas (Emami; Kazemi; Mirian, 2025).

Baixos valores de CAC foram obtidos para as nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 (126; 100 e 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente). O menor valor de CAC observado para a nanopartícula GCCM-CUR/PTX pode ser atribuído a maior interação hidrofóbica e ao de empilhamento π - π entre a CUR e o PTX, ocasionando uma maior contração e proporcionando uma redução da concentração de pró-fármaco necessária para a formação da nanopartícula.

Figura 28 – Variação da razão I_{338}/I_{334} do pireno em função do logaritmo da concentração (25 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dos pró-fármacos GCCM-CUR (A), GCCM-CUR/PTX (B) e GCCM-CUR/R848 (C) a 25 °C



Fonte: dados da pesquisa.

Os valores de CAC presentes neste trabalho são resultados positivos e foram inferiores aos obtidos para nanopartículas de conjugados de ácido hialurônico-CUR (700 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Tian *et al.*, 2018), nanopartículas de pró-fármacos alginato-CUR (654 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Lachowicz *et al.*, 2019) e nanopartículas de poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo)-dextrana-CUR (1240 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Barros *et al.*, 2021) e semelhante ao das nanopartículas de conjugados de ácido hialurônico-PTX (117 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Su *et al.*, 2018), também formados via ligação éster. Entretanto, valor menor foi observado para nanopartículas de conjugado alginato carboximetilado-R848 (0,015 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Chen *et al.*, 2023), podendo estar relacionado às condições de síntese diferentes do presente trabalho. Baixos valores de CAC são preferíveis para evitar a dissociação da nanopartícula quando estas são diluídas na circulação sanguínea após injeção intravenosa (Emami; Kazemi; Mirian, 2025).

4.2.4 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

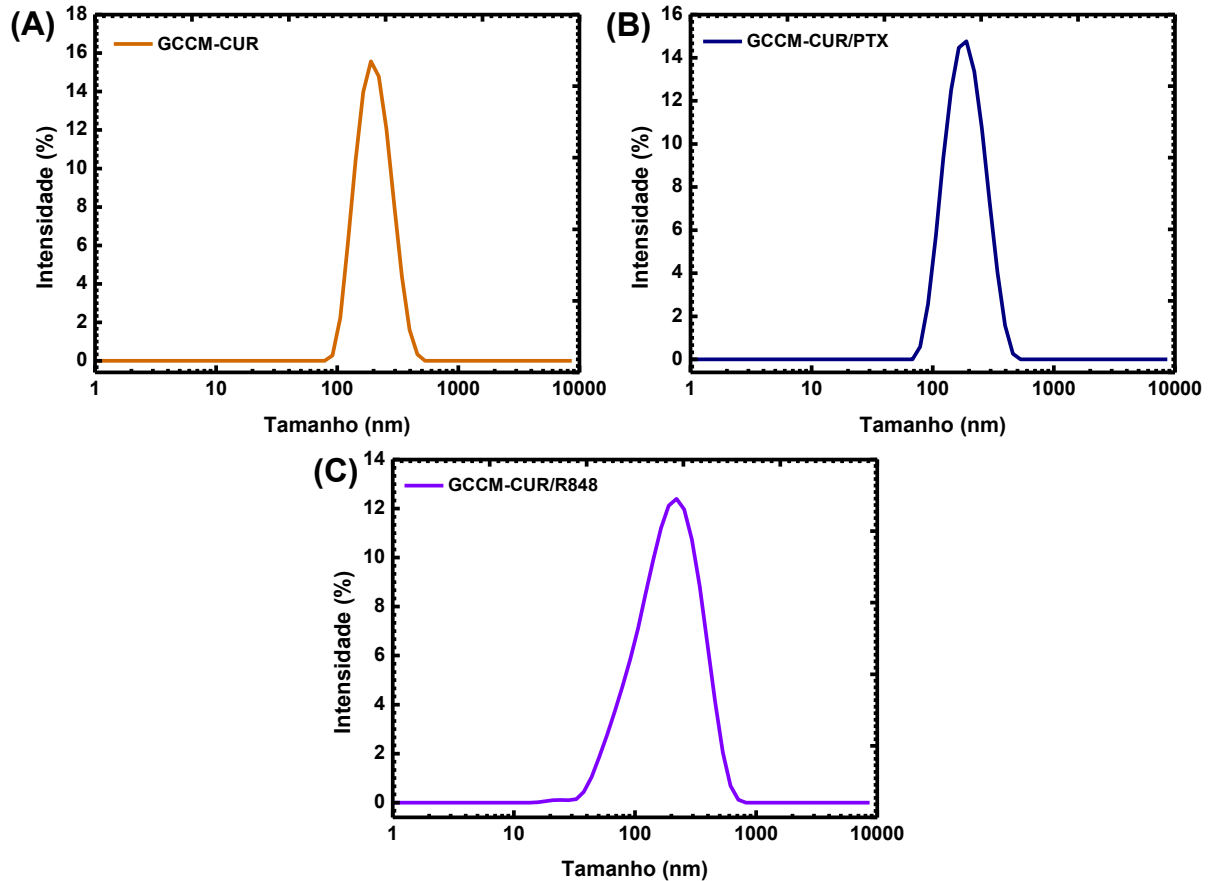
O tamanho da partícula desempenha um papel vital no acúmulo de nanopartículas nas células cancerosas. Visando a aplicação intravenosa, nanopartículas com tamanhos na faixa de 30 a 300 nm são preferidas, devido permanecerem na corrente sanguínea por mais tempo e atingirem o tecido tumoral com mais eficácia (Ferrari *et al.*, 2018; Öztürk; Kaplan; Çaliş, 2024). Esse comportamento está relacionado ao efeito de permeabilidade e retenção (EPR) aprimorada, em que o microambiente tumoral apresenta lacunas maiores no endotélio vascular em comparação com os vasos sanguíneos normais (Huang *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2022). Em relação aos tamanhos superiores a 300 nm, problemas como trombose e rápida eliminação pelo fígado e baço podem ocorrer. Além disso, partículas inferiores a 10 nm podem ser eliminadas pelos rins, devendo então ser evitadas (Ferrari *et al.*, 2018).

Os tamanhos de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foram determinados por DLS e estão listados na Tabela 4. A distribuição de tamanho é mostrada na Figura 29. Pode-se observar que as nanopartículas de pró-fármaco apresentam distribuições de tamanho unimodais. O diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foi em torno de 190 nm, e a distribuição foi uniforme com um valor de IPD $\leq 0,40$ (Tabela 4). Deste modo, as nanopartículas deste trabalho possuem tamanho adequado para promover o acúmulo seletivo em tecidos cancerígenos pelo EPR, bem como para aplicação intravenosa (Bernabeu *et al.*, 2017).

O tamanho de partícula obtido neste trabalho para a nanopartícula GCCM-CUR foi menor do que o obtido por Sarika *et al.* (2015b) para a nanopartícula de pululana-CUR (363 ± 10 nm) e por Dey e Sreenivasan (2014) para a nanopartícula de alginato-curcumina ($459 \pm 0,32$ nm) pela reação de acoplamento DCC/DMAP. Nanopartículas para coadministração de fármacos com tamanhos de partícula inferiores a 200 nm foram obtidas para nanopartículas de poli(etilenoglicol)-poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)/CUR/PTX ($85,8 \pm 0,21$ nm) (Lin *et al.*, 2023) e para nanopartículas HA-DOX/poli(L-histidina)/R848 (192,9 nm) (Liu *et al.*, 2018).

O potencial zeta das nanopartículas foi negativo (Tabela 4), e a superfície carregada negativamente nas nanopartículas pode ser parcialmente responsável por sua estabilidade, pois pode impedir a agregação por repulsão eletrostática (Chen *et al.*, 2020b). Além disso, observou-se uma redução no potencial zeta dos pró-fármacos em relação à GCCM, podendo ser indicativo do consumo dos grupos ácido da GCCM durante a reação de esterificação.

Figura 29 – Distribuição de tamanho das nanopartículas de pró-fármacos GCCM-CUR (A), GCCM-CUR/PTX (B) e GCCM-CUR/R848 (C) em água obtidas por DLS



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 4 – Dados de tamanho de partícula por DLS e AFM, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta ($P\zeta$) para a GCCM e as nanopartículas de pró-fármacos (GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848) e concentração de agregação crítica (CAC) para os pró-fármacos. D.P. (desvio padrão)

Amostras	Tamanho \pm D.P. (nm)	IPD \pm D.P.	$P\zeta$ (mV)	CAC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	AFM (nm)
GCCM	235 \pm 23	0,52 \pm 0,05	-37 \pm 1,9	-	-
GCCM-CUR	190 \pm 0,3	0,09 \pm 0,03	-18 \pm 0,1	125	\sim 30
GCCM-CUR/PTX	181 \pm 3,8	0,34 \pm 0,01	-18 \pm 0,4	100	\sim 106
GCCM-CUR/R848	185 \pm 3,3	0,40 \pm 0,02	-17 \pm 2,4	150	\sim 105

Fonte: dados da pesquisa.

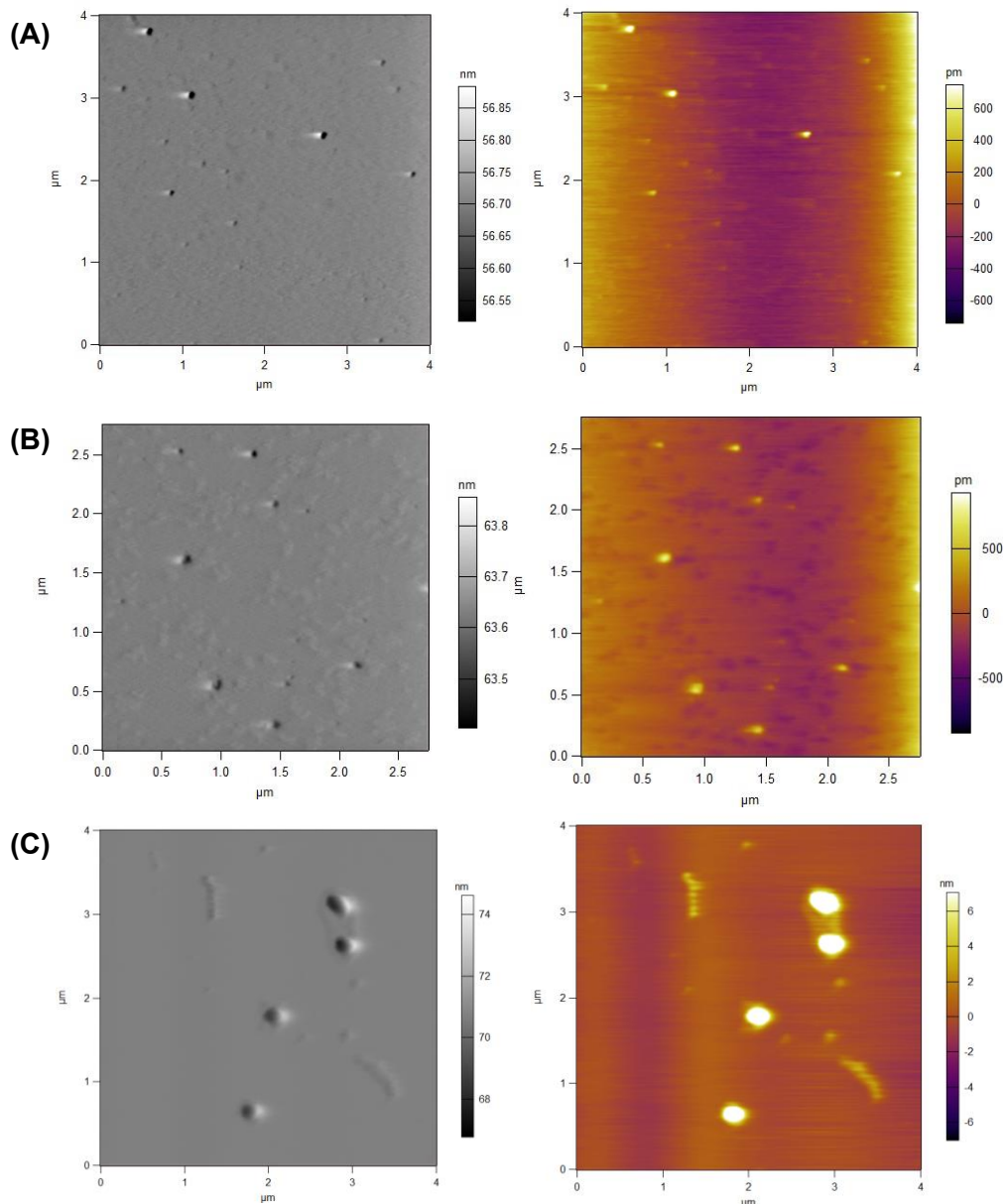
4.2.5 Microscopia de força atômica (AFM)

A AFM é uma análise microscópica utilizada para caracterização de sistemas nanoparticulados. Através desta técnica foi possível analisar a morfologia das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848. As imagens de AFM das

nanopartículas apresentaram morfologia esférica e tamanho médio de partícula cerca de 30, 106 e 105 nm, respectivamente (Figura 30).

O tamanho médio das nanopartículas observadas por AFM foi menor que o diâmetro observado no DLS. Esse fato deve-se às diferenças nas condições de processamento da análise, onde a técnica de AFM requer que a amostra seja observada em estado seco, enquanto DLS analisa a amostra em estado solvatado, em que há partículas associadas às moléculas de solvente. Deste modo, o tamanho detectado por AFM é geralmente menor que o detectado por DLS (Eaton *et al.*, 2017).

Figura 30 – Imagens de microscopia de força atômica de altura (em laranja) e de amplitude (em cinza) das nanopartículas GCCM-CUR (A), GCCM-CUR/PTX (B) e GCCM-CUR/R848 (C)

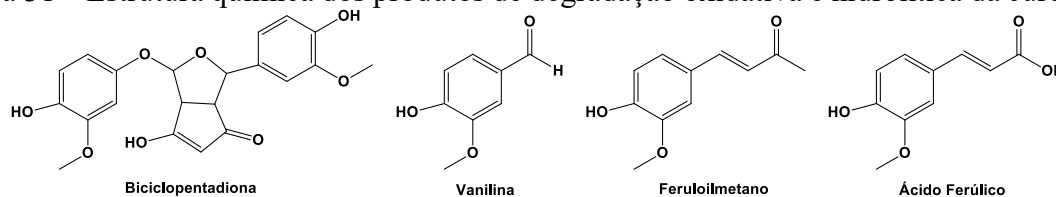


Fonte: dados da pesquisa.

4.2.6 Estabilidade química da curcumina livre e nas nanopartículas

A rápida degradação oxidativa e hidrolítica e a instabilidade fisiológica da curcumina são as principais razões da sua baixa biodisponibilidade (Tian *et al.*, 2018). Diversos estudos demonstraram que a CUR pode inicialmente ser parcialmente desprotonada e fragmentada em biciclo-pentadiona e em outros fragmentos menores como vanilina, feruloilmetano e ácido ferúlico (Figura 31). Esses fragmentos menores contribuem de forma insignificante para a absorção de luz. Portanto, uma diminuição na absorbância pode indicar uma diminuição na concentração de CUR pura em solução (Nelson *et al.*, 2017; Zheng; McClements, 2020).

Figura 31 – Estrutura química dos produtos de degradação oxidativa e hidrolítica da curcumina



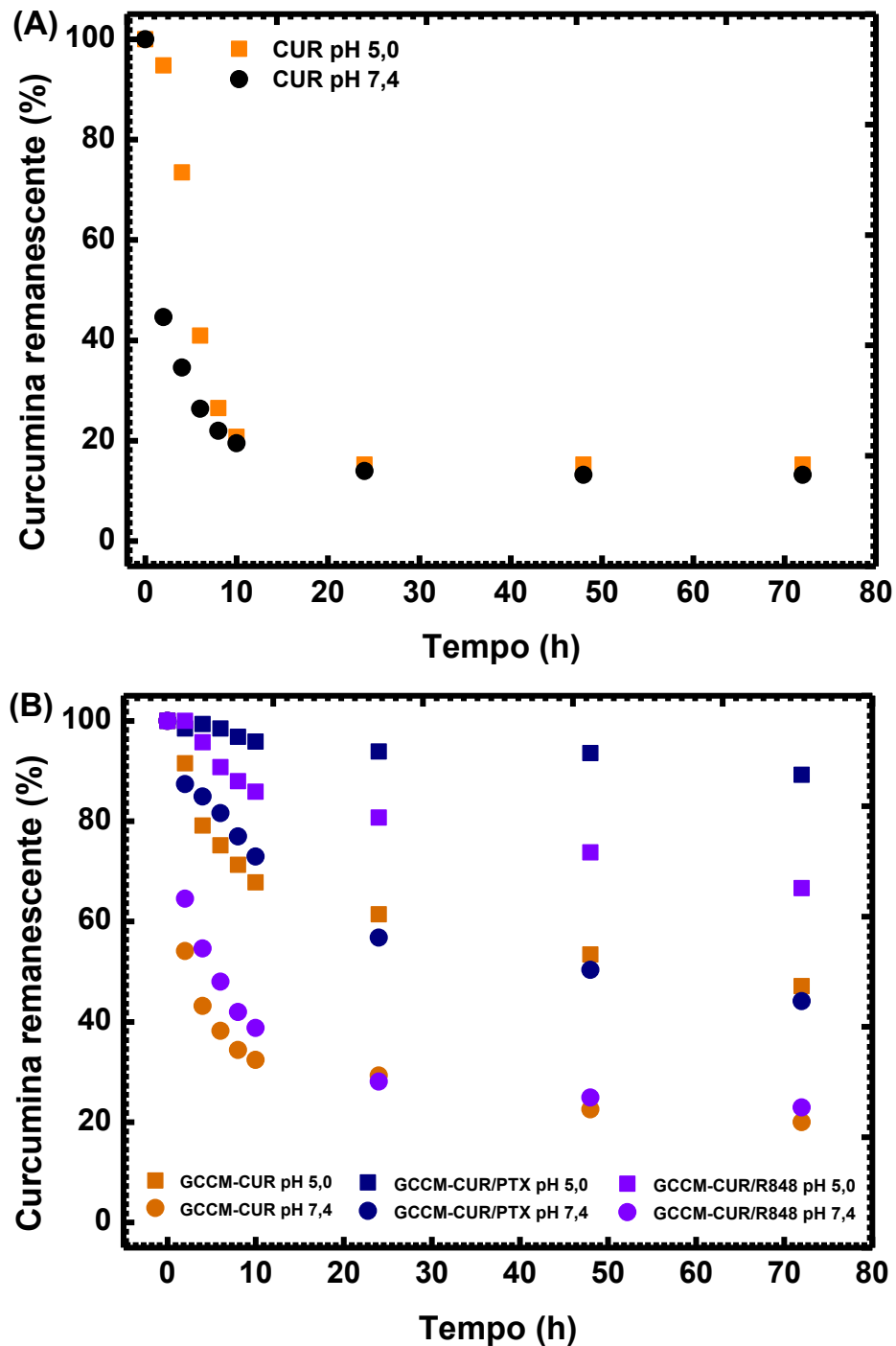
Fonte: elaborada pela autora.

A estabilidade química da curcumina livre e conjugada nas nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 em solução PBS pH 5,0 e 7,4 foi avaliada por 72 h usando análise UV-vis, conforme ilustrado na Figura 32. Os resultados demonstraram o efeito protetor das nanopartículas na degradação da CUR. Após 72 h, a quantidade de CUR remanescente nas nanopartículas GCCM-CUR (47%, pH 5,0; 20%, pH 7,4), GCCM-CUR/PTX (89%, pH 5,0; 44%, pH 7,4) e GCCM-CUR/R848 (67%, pH 5,0; 21%, pH 7,4) em pH 5,0 foi de 3 a 6 vezes maior do que à da CUR livre (15%, pH 5,0; 13%, pH 7,4). Já em pH 7,4, foi de 1,5 a 3,4 vezes maior. Em pH 7,4, observou-se que o teor de CUR remanescente foi inferior a 45% nas nanopartículas. Esse comportamento deve-se ao fato de que, em condições alcalinas, o grupo hidroxila fenólico é desprotonado, o que leva ao aumento da solubilidade da CUR em água e facilita sua eliminação. Já em condições ácidas, o grupo hidroxila permanece protonado, resultando em baixa solubilidade da CUR em água (Schneider *et al.*, 2015; Kharat *et al.*, 2017).

Ao comparar as nanopartículas, observa-se que a proteção da CUR foi mais eficiente nas nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848. Dentre estas, a nanopartícula GCCM-CUR/PTX demonstrou a maior capacidade de proteção, possivelmente em razão do menor valor de CAC obtido, o qual está relacionado à maior estabilidade da nanopartícula e à sua menor tendência à dissociação sob condições diluídas. Esses resultados

indicam que a estabilidade da CUR (hidrofóbica) foi significativamente melhorada após sua conjugação com a GCCM (hidrofílica), uma vez que os pró-fármacos tendem a se auto-organizar em nanopartículas constituídas por um núcleo hidrofóbico (CUR) e um invólucro hidrofílico (GCCM), favorecendo a proteção da CUR contra a degradação em ambientes ácidos e alcalinos.

Figura 32 – Estabilidade química da curcumina livre (A) e conjugada nas nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 (B) em PBS pH 5,0 e 7,4 a 37 °C



Fonte: dados da pesquisa.

4.2.7 Estudo de liberação *in vitro* dos fármacos

A sensibilidade da ligação éster às mudanças de pH foi analisada por meio do estudo de liberação *in vitro* dos fármacos em condições ácidas (pH 5,0; simulando o ambiente tumoral) e fisiológicas (pH 7,4; simulando o pH sanguíneo) (Figura 33).

Observou-se uma rápida liberação dos fármacos nas primeiras 10 h de experimento. Durante o período de 24 a 72 h, os fármacos foram liberados lentamente e atingiram um platô em ambas as soluções de PBS. Esse fato pode ser atribuído a uma tendência ao equilíbrio da pressão osmótica dentro e fora da membrana de diálise (Lin *et al.*, 2023). A rápida taxa de liberação inicial pode ser atribuída à liberação de moléculas do fármaco próximas à superfície. Em contraste, o fármaco remanescente dentro da nanopartícula foi liberado lentamente devido à estrutura hidrofóbica (Liu *et al.*, 2023a).

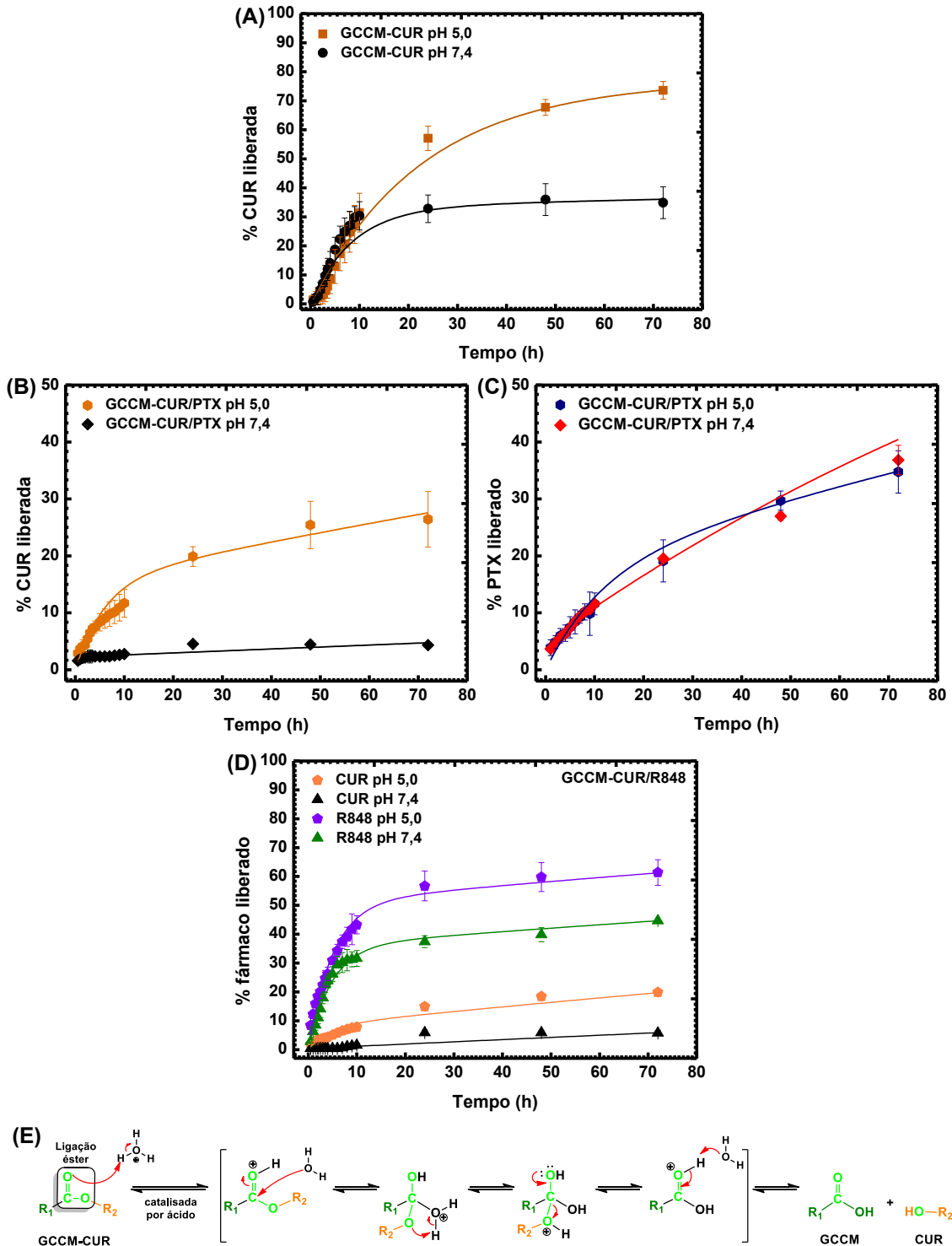
De acordo com os resultados apresentados na Figura 33 e Tabela 5, observou-se que o pH do meio tem uma clara influência na quantidade de fármaco liberado, tendo as nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 apresentado percentual de liberação de CUR e R848 em pH 5,0 maiores do que em pH 7,4 após 72 h de experimento. Em pH 7,4, as nanopartículas foram projetadas para serem estáveis prevenindo assim qualquer toxicidade indesejada do fármaco durante a circulação no corpo. No entanto, uma vez que as nanopartículas atingem o local do tumor, que normalmente é ácido devido ao acúmulo de metabólitos ácidos, ocorre uma liberação significativa do fármaco (Liu *et al.*, 2023a). Este comportamento de liberação controlada com base nas condições de pH destaca o potencial das nanopartículas poliméricas para administração direcionada de fármacos na terapia do câncer.

Tabela 5 – Percentual de liberação da CUR, PTX e R848 das nanopartículas após 10 e 72 h de experimento

Tempo (h)	pH	Percentual de fármaco liberado (%)				
		GCCM-CUR		GCCM-CUR/PTX		GCCM-CUR/R848
		CUR	CUR	PTX	CUR	R848
10	5,0	31,4 ± 6,6	11,7 ± 2,4	11,6 ± 1,9	7,8 ± 0,6	43,2 ± 3,1
	7,4	30,3 ± 4,8	2,7 ± 0,2	11,6 ± 0,5	1,5 ± 0,7	31,6 ± 2,7
72	5,0	73,5 ± 3,0	26,4 ± 4,8	34,7 ± 3,7	19,8 ± 0,9	61,4 ± 4,4
	7,4	34,8 ± 5,5	4,3 ± 0,3	36,8 ± 2,6	5,7 ± 0,8	44,7 ± 0,1

Fonte: dados da pesquisa.

Figura 33 – Perfil de liberação *in vitro* da CUR das nanopartículas GCCM-CUR (A) e GCCM-CUR/PTX (B), do PTX da nanopartícula GCCM-CUR/PTX (C) e da CUR e R848 da nanopartícula GCCM-CUR/R848 (D) em PBS pH 5,0 e 7,4 contendo 0,1% LSS a 37 °C. Ilustração esquemática da hidrólise da ligação éster formada entre o grupo -COOH da GCCM e o grupo -OH da CUR (E)



Fonte: dados da pesquisa.

Em ambiente ácido, a ligação éster é clivada, enquanto em condições neutras pode ser hidrolisada lentamente, o que favorece a liberação sustentada dos fármacos (Gao *et al.*,

2025). Isso ocorre porque a catálise ácida pode protonar o oxigênio carbonílico do éster, tornando o carbono mais suscetível ao ataque nucleofílico pela água (Figura 33E). Essa etapa de protonação aumenta a eletrofilicidade do carbono carbonílico, facilitando a adição de água e a subsequente clivagem da ligação éster para formar produtos de ácido carboxílico e álcool (Figura 33E) (Klein, 2016).

Perfis de liberação semelhantes foram relatados para nanopartículas de xilana-CUR sintetizadas via ligação éster, na qual 60-65% de CUR foi liberado em pH 5,0 após 48 h, enquanto apenas 40-45% do CUR foi liberado em pH 7,4 (Sauraj *et al.*, 2020). E para as nanopartículas de hidroxietilamido-CUR sintetizadas via ligação éster, que apresentaram um perfil de liberação inferior a 25% de CUR em pH 7,4 após 72 h, enquanto em pH 5,0 mais de 60% de CUR foi liberado após 72 h (Chen *et al.*, 2020b).

O PTX apresentou perfis de liberação semelhantes em ambos os pHs (Figura 33C e Tabela 5), com porcentagem de $35 \pm 4\%$ em pH 5,0 e $37 \pm 2\%$ em pH 7,4, após 72 h de experimento. Essa similaridade em ambos os pHs pode estar relacionada ao fato de o PTX ser encapsulado na nanopartícula e a liberação ocorrer por difusão a partir da matriz.

R848 encapsulado em nanopartículas poliméricas apresentou percentual de liberação em pH 5,0 maior que em pH 7,4. Nanopartículas de ácido hialurônico-DOX/poli(L-histidina)/R848 sintetizadas via ligação hidrazona liberaram mais de 75% de R848 em pH 5,5 após 72 h, enquanto cerca de 30% de R848 foi liberado em pH 7,4 (Liu *et al.*, 2018). Para nanopartículas de ácido hialurônico/CDDP/DOX/R848, 96,5% de R848 foi liberado em pH 5,5 após 72 h, sendo esse percentual de liberação 3,0 vezes maior do que em pH 7,4 (Zhang *et al.*, 2021).

O mecanismo cinético das liberações de CUR, PTX e R848 a partir das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foi avaliado utilizando o modelo de Zeng, An e Wu (2011). Este modelo tem sido utilizado para analisar perfis de liberação de fármacos a partir de nanopartículas, considerando tanto o processo de difusão do fármaco quanto as interações fármaco-matriz. Assim, os parâmetros cinéticos (k_s – constante de difusão, k_{on} – constante de associação, k_{off} – constante de dissociação e ΔG – diferença de energia livre de Gibbs entre os estados livre e ligado) podem ser utilizados para explicar o processo de liberação (Zeng; An; Wu, 2011; Ioniță *et al.*, 2022).

Os parâmetros cinéticos e termodinâmicos k_s , k_{on} e k_{off} da liberação de CUR, PTX e R848 das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foram determinados ajustando os dados de liberação à equação 5, enquanto o ΔG foi calculado usando a equação 6. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros cinéticos para a liberação de CUR, PTX e R848 das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848

Nanopartículas	Fármacos	pH	Parâmetros				
			k_s (h ⁻¹)	k_{on} (h ⁻¹)	k_{off} (h ⁻¹)	ΔG (10 ⁻²¹ J)	R ²
GCCM-CUR	CUR	5,0	0,044	2,25×10 ⁻⁴	6,98×10 ⁻⁴	4,84	0,986
		7,4	0,117	1,19×10 ⁻³	5,90×10 ⁻⁴	-3,00	0,924
GCCM-CUR/PTX	CUR	5,0	0,167	0,012	0,002	-7,68	0,896
		7,4	1,892	0,016	3,59×10 ⁻⁴	-16,2	0,777
	PTX	5,0	0,087	0,016	0,003	-7,16	0,967
		7,4	0,895	0,123	0,006	-12,9	0,989
GCCM-CUR/R848	CUR	5,0	0,2274	0,0209	0,0018	-10,3	0,782
		7,4	12,948	0,2062	7,89x10 ⁻⁴	-23,8	0,306
	R848	5,0	0,2011	0,0033	0,0034	0,13	0,960
		7,4	0,2090	0,0038	0,0021	-2,52	0,998

k_s é a constante da taxa de difusão, k_{on} é a constante da taxa de associação do fármaco, k_{off} é a constante da taxa de dissociação do fármaco, ΔG é a energia livre de Gibbs e R² é o coeficiente de determinação. $K_B = 1,380649 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$

Fonte: dados da pesquisa.

O mecanismo de liberação da CUR das nanopartículas GCCM-CUR, GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 em ambos os valores de pH é caracterizado por uma liberação inicial rápida de moléculas livres do fármaco por difusão, seguida por uma liberação mais lenta do fármaco ligado pelo processo de dissociação. Isso é corroborado pelos valores observados de $k_s \gg k_{on}$ e $k_s \gg k_{off}$ (equação 5), conforme mostrado na Tabela 6. Embora o PTX e o R848 não estejam ligados à matriz (polissacarídeo), eles interagem fortemente com a CUR por meio de interações hidrofóbicas e de empilhamento π - π . A liberação do R848 segue um padrão semelhante ao da CUR. Já a liberação do PTX segue um padrão distinto ao da CUR e é controlada principalmente por difusão em ambas as condições de pH.

Para a liberação da CUR da nanopartícula GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 em pH 7,4, a condição $k_{on} \gg k_{off}$ (Tabela 6) indica uma forte interação entre a CUR e a matriz da nanopartícula. Nesse caso, a liberação do fármaco é controlada principalmente pela difusão do fármaco não ligado, visto que a dissociação é menos favorável. Além disso, os valores de ΔG fornecem informações sobre a influência do pH nas interações fármaco-matriz. Os valores mais baixos de ΔG em pH 7,4, em comparação com pH 5,0, indicam uma interação termodinâmica mais forte com o fármaco e uma liberação mais lenta em condições neutras. Por

outro lado, os valores mais altos de ΔG em pH 5,0 refletem interações mais fracas, levando a uma maior tendência à liberação do fármaco. Essa tendência é consistente com a estabilização das interações fármaco-matriz em pH neutro e com a potencial hidrólise das ligações éster entre a GCCM e a CUR em condições ácidas, facilitando a liberação do fármaco.

O mesmo modelo cinético foi utilizado para avaliar o efeito do pH na liberação de amiodarona de nanocápsulas lipídicas (Zeng; An; Wu, 2011). Os autores demonstraram que o valor de ΔG aumentou de $-9,3 \times 10^{-21}$ J em pH 7,4 para $4,5 \times 10^{-21}$ J em pH 2,0, confirmando uma diminuição da interação fármaco/nanocápsulas em valores de pH baixos, com aumento da liberação do fármaco.

Ribeiro *et al.* (2024) investigaram a liberação de DOX a partir de um nanoconjugado formado via ligação imina (reação de base de Schiff) entre a goma do cajueiro e a DOX. Os autores demonstraram que, à medida que o pH diminuiu para 5,0, o valor de ΔG aumentou para $1,15 \times 10^{-21}$ J em comparação com o valor em pH 7,4 ($-4,09 \times 10^{-21}$ J), devido ao enfraquecimento da ligação imina (base de Schiff) em valores de pH mais baixos.

Para melhor elucidar o mecanismo de liberação da CUR em pH 5,0 e 7,4 das nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 utilizou-se os modelos cinéticos de Higuchi, Hixson-Crowell e Korsmeyer-Peppas.

O modelo de Higuchi (equação 7) descreve a liberação do fármaco como um processo de difusão baseado na lei de Fick, estando dependente da raiz quadrada do tempo (Higuchi, 1963).

$$f_t = k_H t^{1/2} \quad (7)$$

onde, k_H é a constante de velocidade de dissolução de Higuchi e f_t é a fração de fármaco liberada em um tempo t .

O modelo de Hixson-Crowell (equação 8) considera a diminuição da área superficial de uma partícula esférica em função do tempo, reconhecendo que a área de uma partícula é proporcional à raiz cúbica do seu volume (Hixson; Crowell, 1931).

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = k_S t \quad (8)$$

onde, W_0 é a quantidade inicial de fármaco existente na forma farmacêutica, W_t é a quantidade restante de fármaco existente na forma farmacêutica ao tempo t e k_s é a constante de velocidade que incorpora a relação superfície/volume.

O modelo de Korsmeyer-Peppas (equação 9) pode ser utilizado para analisar a liberação de formas farmacêuticas baseada em matrizes poliméricas, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando possa estar envolvido mais do que um tipo de mecanismo de liberação. O valor n caracteriza diferentes mecanismos de liberação, onde $n = 0,45$ a difusão é Fickiana; $0,45 < n < 0,89$ tem-se a difusão anômala ou não Fickiana (difusão + erosão) e com $n \geq 0,89$, transporte caso-II (relaxamento da matriz ou erosão da cadeia polimérica) (Korsmeyer *et al.*, 1983).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = at^n \quad (9)$$

onde, a é uma constante; n é o expoente de liberação e M_t/M_∞ a fração do fármaco liberado.

Os modelos que melhor descrevem a liberação da CUR das nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 foram os modelos de Higuchi e Korsmeyer-Peppas (em pH 5,0) e o modelo de Higuchi (em pH 7,4), que foram selecionados a partir do maior valor do coeficiente de determinação (R^2) (Tabela 7).

Os modelos de Higuchi e Korsmeyer-Peppas indicam que a liberação da CUR ocorre por difusão Fickiana ($n = 0,44$, GCCM-CUR/R848) e não Fickiana ($n = 0,48$, GCCM-CUR/PTX). Em pH 5,0, ocorre a liberação da CUR tanto via difusão como a partir da hidrólise parcial da ligação éster entre a matriz e a CUR. Já em pH 7,4, devido à relativa estabilidade da ligação éster nesse meio, não ocorre a desagregação da partícula, sendo a CUR liberada por difusão e tendo assim, apresentado um baixo teor de liberação (Figura 33D).

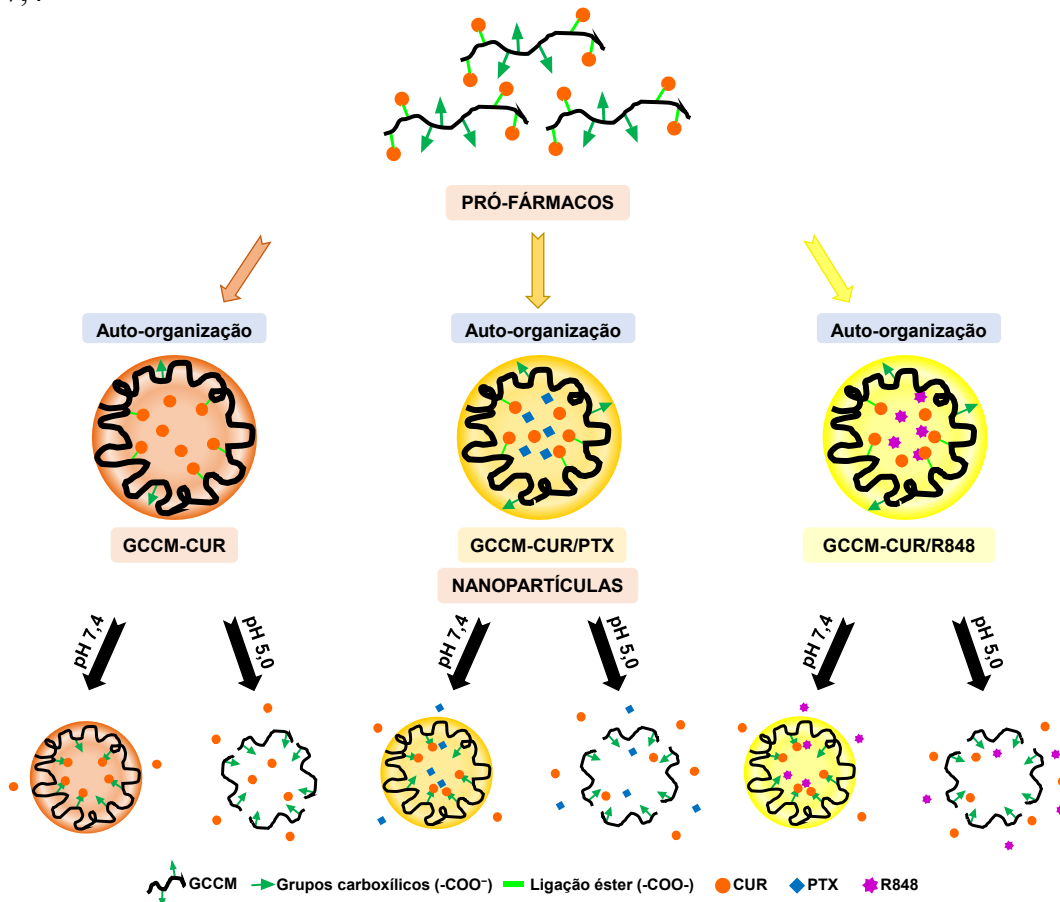
Tabela 7 – Valores dos coeficientes de determinação (R^2) obtidos a partir de equações dos modelos cinéticos para liberação da CUR das nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848

Modelos cinéticos	Nanopartículas			
	GCCM-CUR/PTX		GCCM-CUR/R848	
	pH 5,0	pH 7,4	pH 5,0	pH 7,4
Higuchi	0,976	0,863	0,976	0,846
Hixson-Crowell	0,743	0,723	0,775	0,766
Korsmeyer-Peppas	0,971	0,836	0,978	0,015

Fonte: dados da pesquisa.

Essas descobertas ressaltam o comportamento de liberação de fármacos dependente do pH das nanopartículas baseadas em GCCM e destacam seu potencial para aplicações de administração controlada de fármacos adaptadas a ambientes fisiológicos específicos (Figura 34).

Figura 34 – Representação do comportamento das nanopartículas de pró-fármacos em PBS pH 5,0 e 7,4



Fonte: elaborada pela autora.

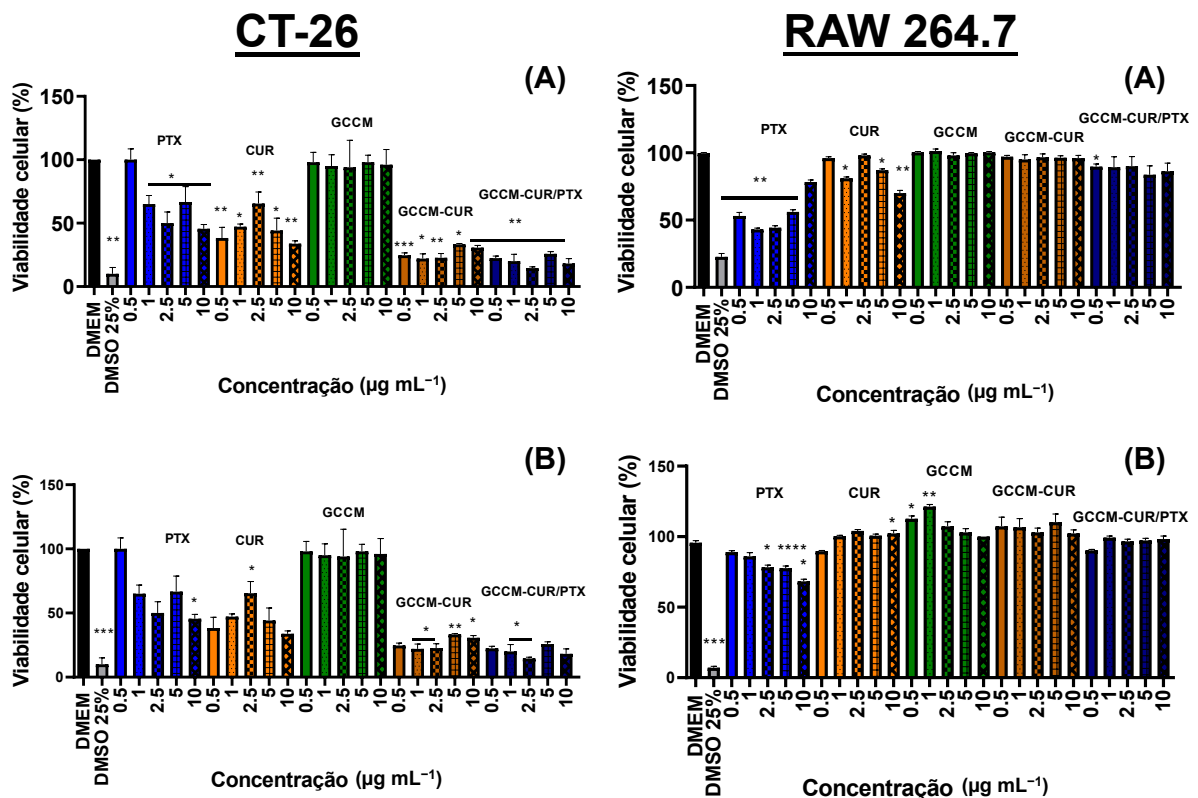
4.3 Ensaios celulares *in vitro* com as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX

A nanopartícula GCCM-CUR/PTX apresenta em sua composição dois quimioterápicos, a CUR e o PTX. Com isto, o foco do ensaio de viabilidade celular foi avaliar a citotoxicidade e o efeito sinérgico desses fármacos frente as células cancerosas CT-26 e a captação das nanopartículas por essas células.

4.3.1 Ensaios de viabilidade celular

O ensaio MTT foi utilizado para investigar a citotoxicidade da matriz sem fármaco (GCCM), dos fármacos isoladamente (CUR e PTX) e das nanopartículas (GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX) incubadas com linhagens celulares cancerosa (CT-26, carcinoma colorretal murino) e não-cancerosa (RAW 264.7, macrófagos murinos) por 24 e 48 h de tratamento em diferentes concentrações (0,5; 1; 2,5; 5 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) das amostras (Figura 35).

Figura 35 – Efeito dos tratamentos na proliferação celular das linhagens CT-26 e RAW 264.7 em diferentes concentrações das amostras e nos tempos de 24 h (A) e 48 h (B). O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle negativo (DMEM) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ ou **** $p < 0,0001$)



Fonte: dados da pesquisa.

A matriz sem fármaco (GCCM) não apresentou significância estatística na proliferação celular em nenhuma das concentrações testadas, indicando seu potencial como material não citotóxico e carreador adequado para administração de fármacos.

Em comparação ao controle negativo (DMEM), os fármacos isolados e as nanopartículas reduziram a proliferação de células CT-26 em diferentes concentrações das amostras. Além disso, em concentrações de 0,5-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ nos tempos de 24 e 48 h, a

viabilidade das células cancerosa CT-26 tratadas com a nanopartícula GCCM-CUR/PTX foi significativamente menor do que a das células tratadas apenas com os fármacos e com a nanopartícula GCCM-CUR (Figura 35).

As nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX não apresentaram significância estatística e foram menos nocivas às células RAW 264.7 após tratamento em diferentes concentrações e tempos, em comparação a célula cancerosa CT-26, demonstrando que as nanopartículas não manifestaram citotoxicidade em células não-cancerosas. A reduzida citotoxicidade das nanopartículas em células RAW 264.7 pode ser atribuída a baixa expressão de CD44 (proteína de superfície celular) em células não cancerosas, que reduz a captação celular das nanopartículas, e a baixa atividade da enzima esterase, que dificulta a liberação do fármaco no citoplasma (Su *et al.*, 2018).

Esses resultados mostraram que as nanopartículas, especialmente a GCCM-CUR/PTX, causaram a morte de células cancerosas sem impactar negativamente a sobrevivência de células não cancerosas. As nanopartículas apresentam um comportamento sensível ao pH, que permite a liberação preferencial do fármaco no microambiente tumoral e diâmetro hidrodinâmico < 200 nm, sendo internalizadas pelas células principalmente por endocitose. A curcumina foi conjugada à GCCM por meio de uma ligação éster ácido-lábil. Como o pH nas células cancerosas (por exemplo, endossomos e lisossomos) é mais ácido (aproximadamente pH 5,0) em comparação com o das células normais (pH 7,4), a ligação éster é hidrolisada mais rapidamente nas células cancerosas. Como resultado, o PTX e a CUR podem ser liberados preferencialmente nas células cancerosas, aumentando a seletividade terapêutica por meio da liberação dos fármacos induzida pelo pH. Além disso, essas nanopartículas se mostram promissoras para uso na quimio/quimioterapia do câncer.

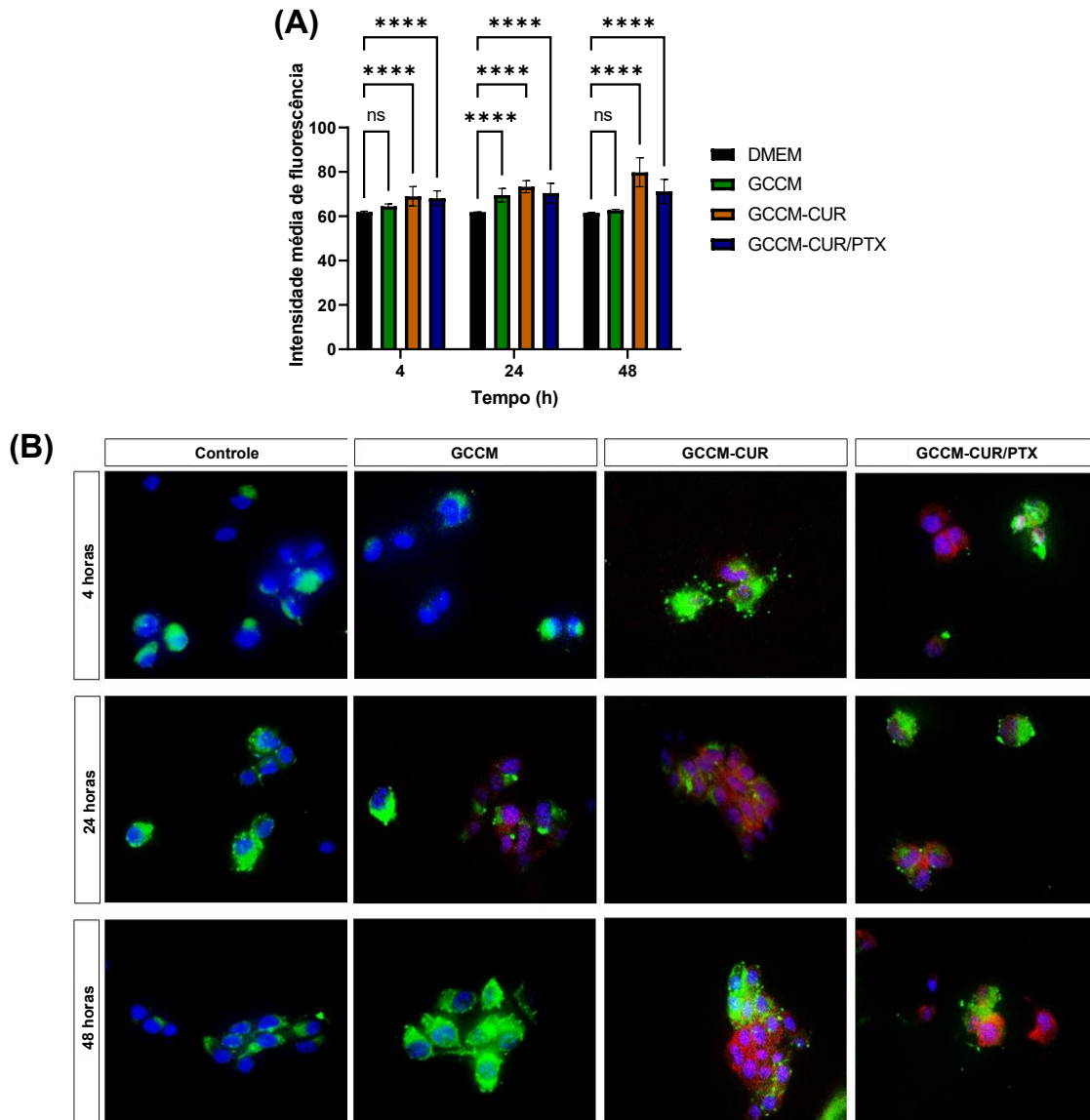
4.3.2 Ensaio de captação celular

A microscopia de fluorescência foi utilizada para avaliar a captação celular da matriz sem fármaco (GCCM) e das nanopartículas (GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX) na linhagem de células cancerosas CT-26 por um período de 4, 24 e 48 h (Figura 36).

A Figura 36A mostra a representação gráfica da intensidade de fluorescência do marcador contido nas nanopartículas quando as células CT-26 são tratadas com $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ das amostras por diferentes tempos. A Figura 36B mostra as imagens de fluorescência da internalização das nanopartículas pela linhagem de células cancerosas CT-26.

Na Figura 36, pode-se observar que as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX foram internalizadas pelas células CT-26 em todos os intervalos de tempo. Houve também um aumento na intensidade de fluorescência para a nanopartícula GCCM-CUR, enquanto para a nanopartícula GCCM-CUR/PTX o índice se manteve relativamente constante com o aumento do tempo (Figura 36A). A amostra GCCM apresentou apenas um resultado significativo, em comparação com o controle negativo, em 24 h.

Figura 36 – Intensidade de fluorescência das nanopartículas no ensaio de captação celular na linhagem cancerosa CT-26. Comparação entre o controle negativo (DMEM) e as nanopartículas em cada tempo (A). Internalização das nanopartículas (vermelhas) nas células CT-26 após 4, 24 e 48 h de incubação (B). Membrana celular (verde) e núcleo (azul). Ampliação: 40×. O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ ou **** $p < 0,0001$). NS (não significativo)



Fonte: dados da pesquisa.

Os dados gerais mostram que as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX (vermelho) apresentaram maior taxa de internalização em 48 h, sendo de ~80% e ~71%, respectivamente (Figura 36A e B). Deste modo, os dados permitem inferir que as nanopartículas podem ser eficientemente internalizadas na membrana celular (verde) e no núcleo (azul) da linhagem celular CT-26. Esses dados corroboram com os de DLS, uma vez que as nanopartículas obtidas apresentaram diâmetro hidrodinâmico < 200 nm, sendo preferidas para acúmulo seletivo em células cancerosas devido ao efeito EPR.

4.4 Ensaios celulares *in vitro* com as nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/R848

A atividade proliferativa observada no tópico 4.3.1 para a nanopartícula GCCM-CUR nas células RAW 264.7 suscitou na ideia de desenvolver uma nanopartícula combinando curcumina e um imunoterápico (GCCM-CUR/R848). Com isto, o foco do ensaio de viabilidade celular foi avaliar o efeito proliferativo frente as células imunes RAW 264.7 e a captação das nanopartículas por essas células.

4.4.1 Ensaios de viabilidade celular

A viabilidade celular da matriz sem fármaco (GCCM) e das nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/R848 em células cancerosas (CT-26, carcinoma colorretal murino) e células imunes (RAW 264.7, macrófagos murinos) foi avaliada usando o ensaio MTT por 24, 48 e 72 h de tratamento em diferentes concentrações (0,5; 1; 2,5; 5 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) das amostras (Figura 37).

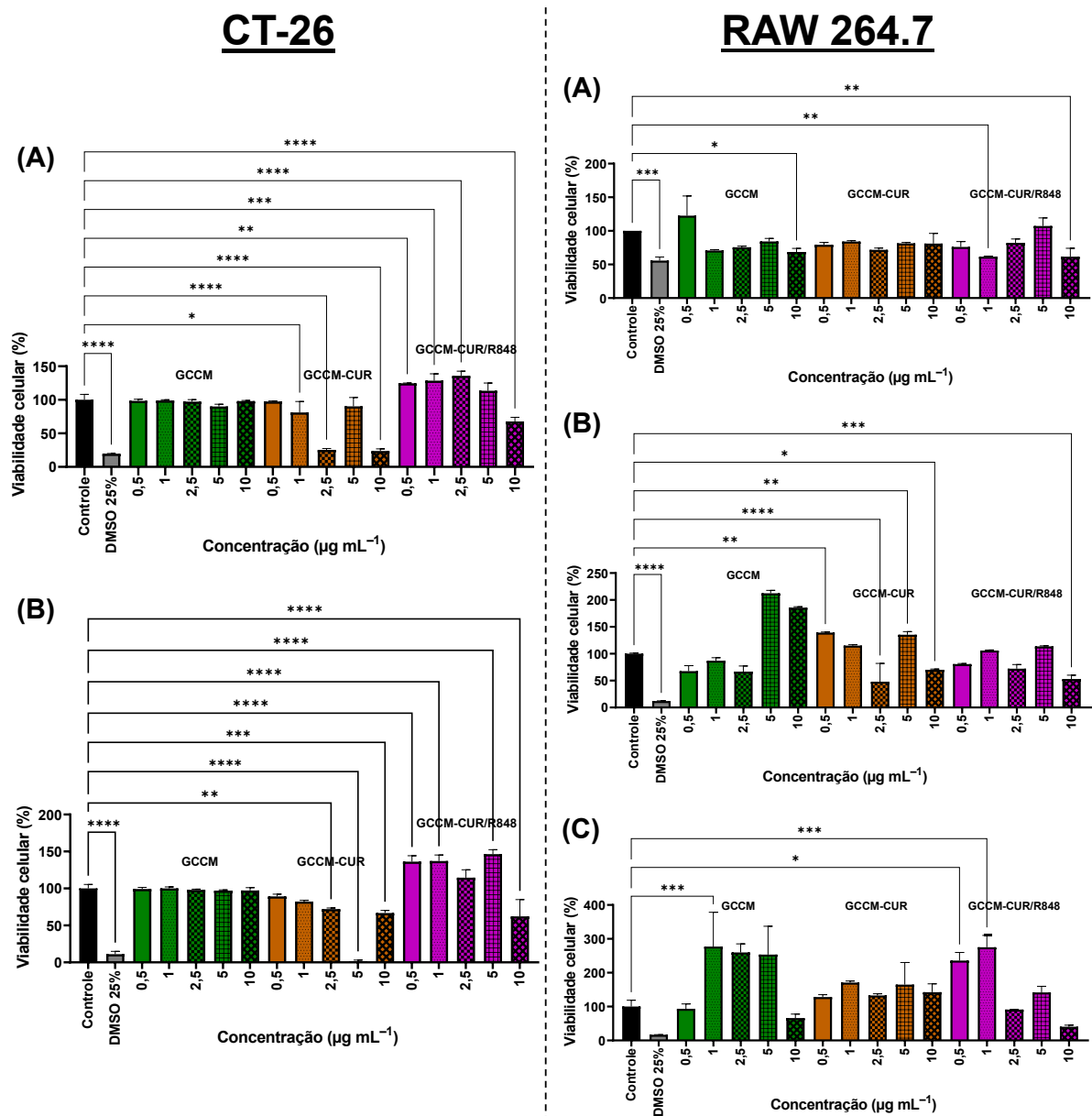
A matriz sem fármaco (GCCM) não apresentou efeitos proliferativos ou citotóxicos significativos nos tempos avaliados, quando comparada ao grupo controle em células CT-26. Já nas células RAW 264.7, observou-se um efeito proliferativo significativo em 72 h de tratamento na concentração 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0,001$).

Para a nanopartícula GCCM-CUR observou-se citotoxicidade significativa nas células CT-26 nas concentrações 1; 2,5 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0,005$ e $p < 0,0001$, respectivamente) em 24 h e 2,5; 5 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0,01$, $p < 0,0001$ e $p < 0,001$, respectivamente) em 48 h. Nas células RAW 264.7, observou-se um efeito proliferativo significativo nas concentrações 0,5 e 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0,01$) em 48 h de incubação.

A nanopartícula GCCM-CUR/R848 mostrou citotoxicidade significativa na concentração 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 24 e 48 h de incubação em células CT-26 e RAW 264.7. Nas

células RAW 264.7, a nanopartícula GCCM-CUR/R848 em relação à nanopartícula GCCM-CUR promoveu a proliferação dessas células especialmente nas concentrações de 0,5 e 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0,05$ e $p < 0,001$, respectivamente) em 72 h. O fato de a nanopartícula GCCM-CUR/R848 não ter apresentado citotoxicidade contra células CT-26 nas demais concentrações deve-se à falta de efeito antitumoral direto do R848, uma vez que ele funciona orquestrando a imunomodulação do microambiente tumoral, resultando na mobilização da resposta imune antitumoral e atuando diretamente apenas nas células imunes RAW 264.7 (Vinod *et al.*, 2020).

Figura 37 – Efeito dos tratamentos na proliferação celular das linhagens CT-26 e RAW 264.7 em diferentes concentrações das amostras e nos tempos de 24 h (A), 48 h (B) e 72 h (C). O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle negativo (DMEM) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ ou **** $p < 0,0001$)



Fonte: dados da pesquisa.

Resultados semelhantes foram obtidos para nanopartículas de ácido hialurônico (HA-DOX e HA-DOX/poli(L-histidina)/R848) em concentrações de 0,05 a 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Liu *et al.*, 2018). As nanopartículas HA-DOX apresentaram citotoxicidade relativamente maior em células de câncer de mama em relação às nanopartículas contendo R848 em 24 h de experimento. Além disso, as nanopartículas contendo R848 apresentaram citotoxicidade significativamente reduzida em células RAW 264.7, e até promoveram a proliferação dessas células dentro de uma determinada faixa de concentração, devido aos efeitos regulatórios do R848 e a seletividade por células imunes (Liu *et al.*, 2018).

Para melhor elucidar a biodistribuição, os efeitos sinérgicos da CUR e do R848 e a ação imunológica do R848, estudos *in vivo* em camundongos serão realizados.

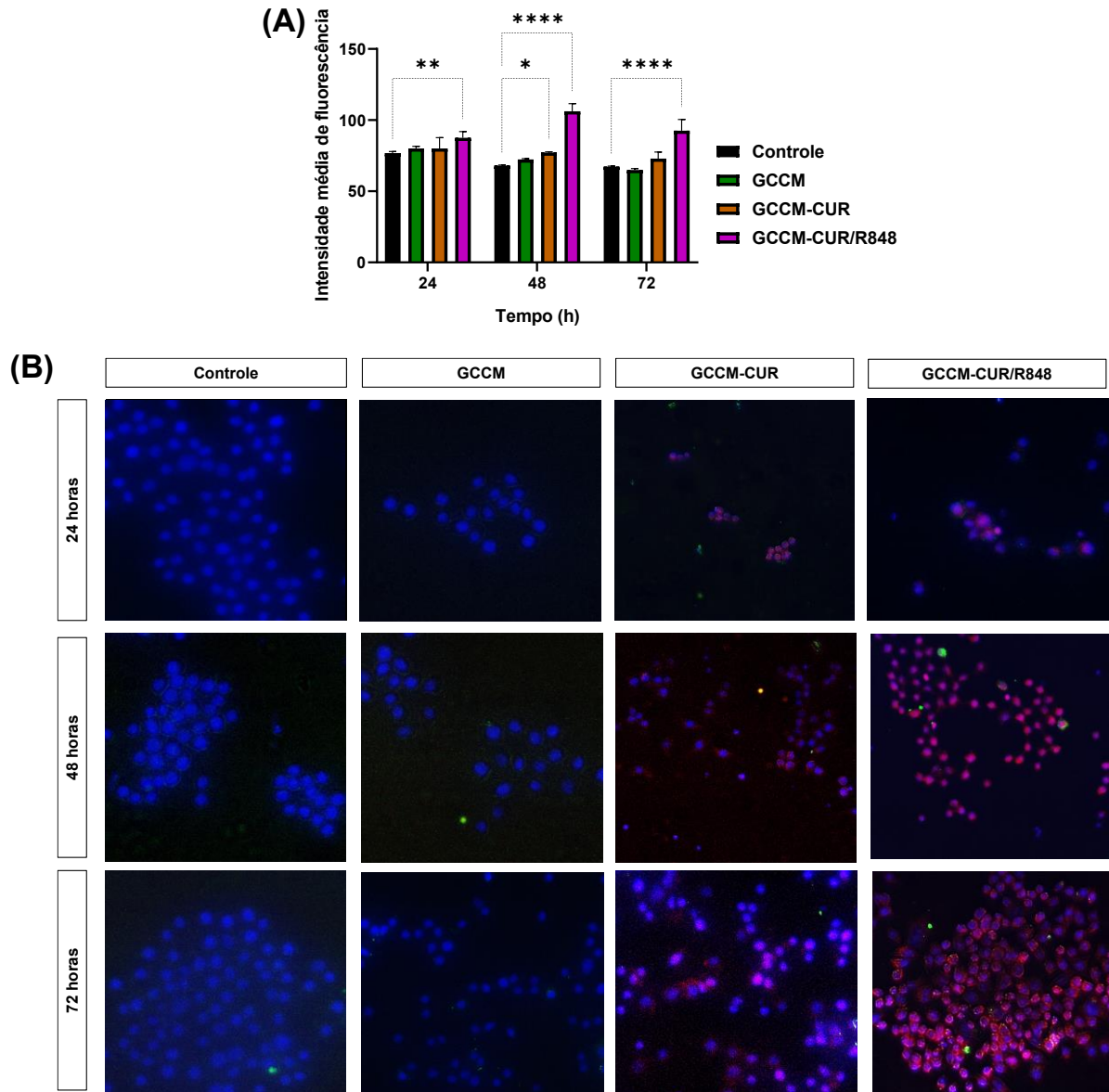
4.4.2 Ensaio de captação celular

O ensaio de captação celular foi realizado em células imunes (RAW 264.7, macrófagos murinos), incubando 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ da matriz sem fármaco (GCCM) e das nanopartículas (GCCM-CUR e GCCM-CUR/R848) marcadas com fluorescência por 24, 48 e 72 h. A captação foi visualizada por microscopia de fluorescência. A representação gráfica da intensidade de fluorescência e as imagens da internalização das amostras estão apresentadas na Figura 38.

A representação gráfica e as imagens de fluorescência (Figura 38) mostram que os níveis de intensidade de fluorescência e captação celular da nanopartícula GCCM-CUR/R848 foram relativamente maiores do que os da nanopartícula GCCM-CUR em todos os intervalos de tempo, possivelmente devido à afinidade do R848 pelos macrófagos. Além disso, ambas as nanopartículas (vermelho) foram internalizadas principalmente no núcleo (azul) das células RAW 264.7.

Os resultados de captação celular, aliados aos dados de liberação e a viabilidade celular, demonstram o potencial das nanopartículas GCCM-CUR/R848 como um sistema seguro e eficaz para a liberação seletiva de curcumina e resiquimod no microambiente tumoral. Além disso, essas nanopartículas se mostram promissoras para uso na quimio/imunoterapia do câncer.

Figura 38 – Intensidade de fluorescência das nanopartículas no ensaio de captação celular em células imunes RAW 264.7. Comparação entre o controle negativo (DMEM) e as nanopartículas em cada tempo (A). Internalização das nanopartículas (vermelhas) pelas células RAW 264.7 após 24, 48 e 72 h de incubação (B). Núcleo (azul). Ampliação: 40×. O asterisco (*) representa um valor significativamente diferente do controle (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ ou **** $p < 0,0001$). NS (não significativo)

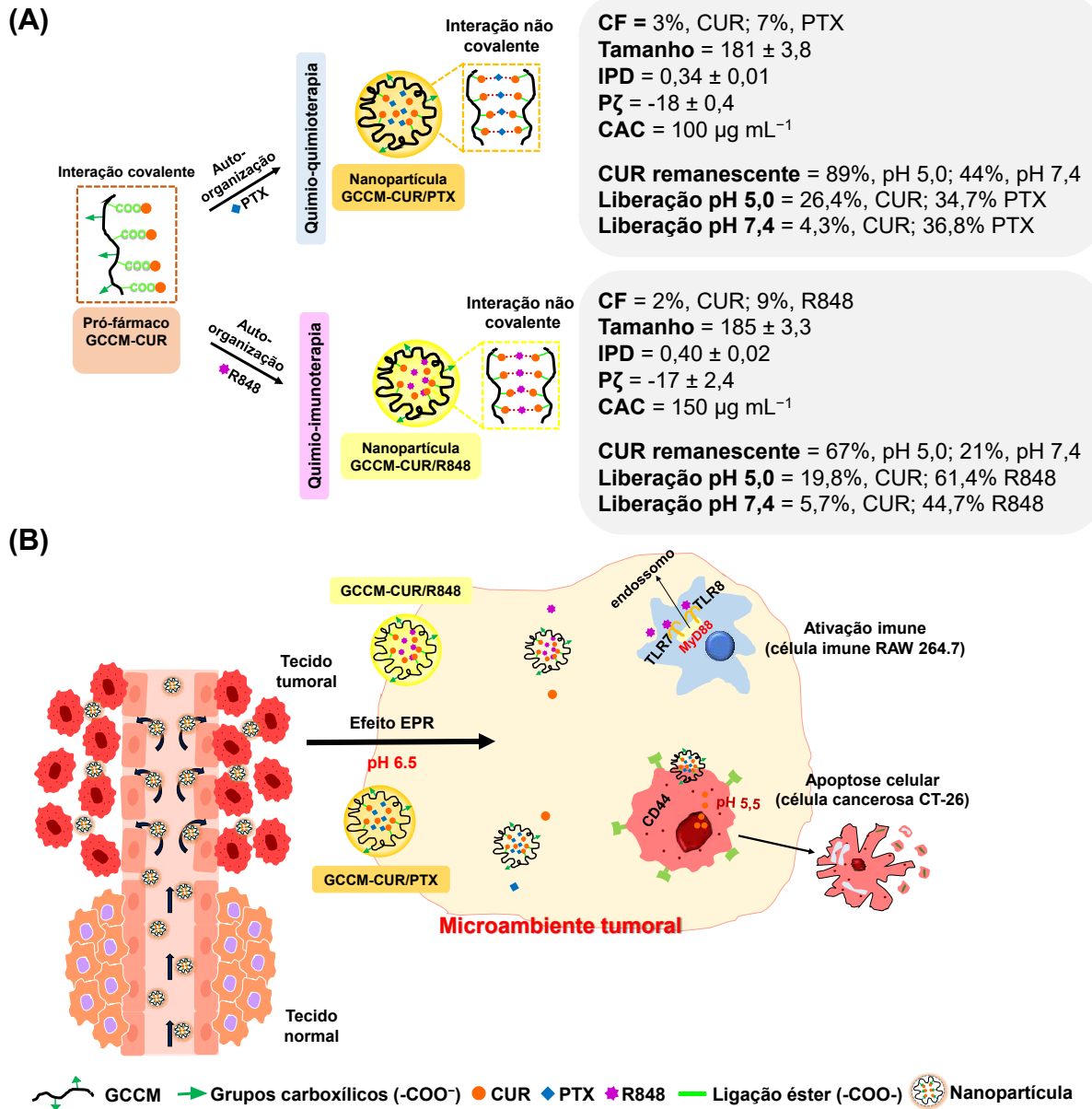


Fonte: dados da pesquisa.

4.5 Análise comparativa entre as nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848

O pró-fármaco GCCM-CUR sintetizado via reação éster com química de cabodiimida foi utilizado para encapsular o quimioterápico paclitaxel (PTX) e o imunoterápico resiquimod (R848) para potencial aplicação na terapia combinada contra o câncer (Figura 39A).

Figura 39 – Dados obtidos para as nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848 (A) e efeito EPR e comportamento das nanopartículas no microambiente tumoral (B)



Fonte: elaborada pela autora; Liu *et al.* (2018, com adaptações).

Ambas as nanopartículas apresentaram resultados promissores para potencial aplicação como sistemas de liberação na terapia do câncer. Apresentaram tamanhos de partículas inferiores a 200 nm com características ao direcionamento passivo via efeito EPR ao microambiente tumoral (Figura 39B), ocasionando o acúmulo mínimo em outros tecidos e reduzindo os efeitos colaterais; promoveram a proteção da CUR frente a processos hidrolíticos e oxidativos; e apresentaram perfil de liberação controlada e sensível ao pH do meio com um percentual de fármaco liberado em pH 5,0 maior do que em pH 7,4, devido a clivagem da ligação éster formada entre a GCCM e a CUR.

Apesar do baixo teor da CUR (CF = 3%) na nanopartícula GCCM-CUR/PTX, a sua coadministração com o PTX (um quimioterápico de primeira linha) se mostrou favorável para inviabilizar o crescimento de células cancerosas CT-26, como mostrado no tópico 4.3.1 (Figura 35). Além disso, não apresentou citotoxicidade contra células não cancerosas RAW 264.7. Deste modo, a nanopartícula GCCM-CUR/PTX apresenta potencial no combate as células do câncer colorretal, através do efeito sinérgico da CUR e do PTX com citotoxicidade reduzida em células normais.

O teor de CUR (CF = 2%) na nanopartícula GCCM-CUR/R848 também foi baixo, podendo este ter sido um dos fatores da falta de citotoxicidade nas células cancerosas CT-26 quando coadministrada com o R848, conforme apresentado na Figura 37 (Tópico 4.4.1). O R848 é um fármaco imunoterápico, ou seja, ele não atua diretamente na morte de células cancerosa, mas na ativação de células imunes para combater as células cancerosas (Vinod *et al.*, 2020). Efeito proliferativo foram observados nas células imunes RAW 264.7, destacando o potencial dessa nanopartícula na imunoterapia contra o câncer. Além de a CUR apresentar efeitos anticancerígenos, como propriedades antiapoptóticas, oxidantes, inflamatórias, proliferativas e angiogênicas, ela possui propriedades que favorecem seu uso como imunomodulador (Parker *et al.*, 2025). Contudo, para melhor compreensão dos efeitos sinérgico da CUR e do R848 e avaliação da ativação do sistema imunológico via sinalização TLR-7 e TLR-8, ensaios *in vivo* serão realizados em camundongos.

De modo geral, o presente trabalho sintetizou nanopartículas favoráveis para potencial aplicação na terapia combinada contra o câncer com enfoque em quimio/quimioterapia e quimio/imunoterapia para as nanopartículas GCCM-CUR/PTX e GCCM-CUR/R848, respectivamente.

5 CONCLUSÃO

Nanopartículas de GCCM conjugadas com CUR (pró-fármaco) foram sintetizadas por meio de uma ligação éster ácido-sensível. Posteriormente, o PTX e o R848 foram encapsulados nesse sistema e dois pró-fármacos para coentrega de CUR e PTX (GCCM-CUR/PTX) e CUR e R848 (GCCM-CUR/R848) foram desenvolvidos. Os pró-fármacos se auto-organizaram em água, formando nanopartículas com tamanhos inferiores a 200 nm, potencial zeta negativo e morfologia esférica, adequadas para aplicação intravenosa. Estudos de perfil de liberação *in vitro* e mecanismo cinético demonstraram que os fármacos podem ser liberados de forma sustentada e com um perfil de liberação responsivo ao pH. As nanopartículas GCCM-CUR e GCCM-CUR/PTX exibiram atividade antitumoral contra a linhagem de células CT-26 (carcinoma colorretal murino) em concentrações muito menores de fármaco do que com o fármaco isolado e citotoxicidade reduzida contra células não-cancerosas (RAW 264.7). Além disso, a terapia combinada quimio/quimioterapia da nanopartícula GCCM-CUR/PTX promoveu uma melhor atividade citotóxica nas células CT-26 em comparação à monoterapia. A nanopartícula GCCM-CUR/R848 não mostrou atividade citotóxica contra células cancerosas devido a característica imunológica do R848, mas mostrou efetividade na proliferação de células imunes RAW 264.7. O estudo de captação celular mostrou que as nanopartículas com CUR e PTX foram absorvidas pelas células CT-26 e as nanopartículas com CUR e R848 pelas células RAW 264.7. No geral, os resultados sugerem que as nanopartículas apresentam potencial promissor para o tratamento sinérgico do carcinoma colorretal.

REFERÊNCIAS

ABBASI, Y.F.; BERA H.; CUN, D.; YANG, M. Recent advances in pH/enzyme-responsive polysaccharide-small-molecule drug conjugates as nanotherapeutics. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 312, p. 120797, 2023.

AFSHARI, A.R.; SANATI, M.; KESHARWANI, P.; SAHEBKAR, A. Recent advances in curcumin-based combination nanomedicines for cancer therapy. **Journal of Functional Biomaterials**, [s. l.], v. 14, p. 408, 2023.

AGILENT TECHNOLOGIES. **An introduction to gel permeation chromatography and size exclusion chromatography**. [s. l.], 2015. 32 p.

AGRAWAL, N.; JAISWAL, M. Bioavailability enhancement of curcumin via esterification processes: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry Reports**, [s. l.], v. 6, p. 100081, 2022.

AHMED, Y.W.; WU, T.Y.; CANDRA, A.; KITAW, S.L.; ANLEY, B.E.; THANKACHAN, D.; HONG, Z.X.; CHUANG, S.H.; KHAN, M.H.; DARGE, H.F.; CHEN, K.J.; CHANG, H.M.; HUANG, C.C.; WANG, J.S.; CHEN, Y.S.; TSAI, H.C. Synergistic local delivery of gemcitabine and resiquimod (R848) via Janus micelles encapsulated in a dual-responsive hydrogel for subcutaneous glioblastoma treatment models. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 112, p. 107255, 2025.

ALBERT, A. Chemical aspects of selective toxicity. **Nature**, [s. l.], v. 182, p. 421, 1958.

ALVES, R.C.; FERNANDES, R.P.; ELOY, J.O.; SALGADO, H.R.N.; CHORILLI, M. Characteristics, properties and analytical methods of paclitaxel: A review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 48, p. 110, 2018.

AMARAL, R.G.; DE ANDRADE, L.R.M.; ANDRADE, L.N.; LOUREIRO, K.C.; SOUTO, E.B.; SEVERINO, P. Cashew gum: A Review of brazilian patents and pharmaceutical applications with a special focus on nanoparticles. **Micromachines**, [s. l.], v. 13, p. 1137, 2022.

AMAROLI, A.; PANFOLI, I.; BOZZO, M.; FERRANDO, S.; CANDIANI, S.; RAVERA, S. The bright side of curcumin: A narrative review of its therapeutic potential in cancer management. **Cancers**, [s. l.], v. 16, p. 2580, 2024.

ANAND, U.; DEY, A.; CHANDEL, A.K.S.; SANYAL, R.; MISHRA, A.; PANDEY, D.K.; DE FALCO, V.; UPADHYAY, A.; KANDIMALLA, R.; CHAUDHARY, A.; DHANJAL, J.K.; DEWANJEE, S.; VALLAMKONDU, J.; DE LA LASTRA, J.M. Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. **Genes and Diseases**, [s. l.], v. 10, p. 1367, 2023.

ARAÚJO JÚNIOR, R.F.; LIRA, G.A.; SCHOMANN, T.; CAVALCANTE, R.S.; VILAR, N.F.; DE PAULA, R.C.M.; GOMES, R.F.; CHUNG, C.K.; JORQUERA-CORDERO, C.; VEPRIS, O.; CHAN, A.L.; CRUZ, L.J. Retinoic acid-loaded PLGA nanocarriers targeting cell cholesterol potentialize the antitumour effect of PD-L1 antibody by preventing epithelial-

mesenchymal transition mediated by M2-TAM in colorectal cancer. **Translational Oncology**, [s. l.], v. 31, p. 101647, 2023.

BADWAIK, H.R.; KUMARI, L.; MAITI, S.; SAKURE, K.; AJAZUDDIN, NAKHATE, K.T.; TIWARI, V.; GIRI, T.P. A review on challenges and issues with carboxymethylation of natural gums: The widely used excipients for conventional and novel dosage forms. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 209, Part B, p. 2197, 2022.

BAGHEL, M.; SAKURE, K.; GIRI, T.K.; MAITI, S.; NAKHATE, K.T.; OJHA, S.; SHARMA, C.; AGRAWAL, Y.; GOYAL, S.; BADWAIK, H. Carboxymethylated gums and derivatization: Strategies and significance in drug delivery and tissue engineering. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 16, p. 776, 2023.

BARROS, C.H.N.; HIEBNER, D.W.; FULAZ, S.; VITALE, S.; QUINN, L.; CASEY, E. Synthesis and self-assembly of curcumin-modified amphiphilic polymeric micelles with antibacterial activity. **Journal of Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 19, p. 104, 2021.

BERNABEU, E.; CAGEL, M.; LAGOMARSINO, E.; MORETTON, M.; CHIAPPETTA, D.A. Paclitaxel: What has been done and the challenges remain ahead. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 526, p. 474, 2017.

BHALIYA, K.R.; ANWER, M.; MUNN, A.; WEI, M.Q. New horizons in cancer immunotherapy: The evolving role of R848 and R837 (Review). **Molecular and Clinical Oncology**, [s. l.], v. 22, p. 4, 2025.

BLOCK, I.K.; GYLLENHAAL, C.; LOWE, L. *et al.* Designing a broad-spectrum integrative approach for cancer prevention and treatment. **Seminars in Cancer Biology**, [s. l.], v. 35, p. S276, 2015.

BRAINER, M.S.C.P. Cajucultura. **Caderno setorial ETENE (Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste)**, Fortaleza, n. 230, p. 1-19, 2022.

BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R.L.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 74, p. 229, 2024.

CACCIOLA, N.A.; CUCINIELLO, R.; PETILLO, G.D.; PICCIONI, M.; FILOSA, S.; CRISPI, S. An overview of the enhanced effects of curcumin and chemotherapeutic agents in combined cancer treatments. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, p. 12587, 2023.

CARNEIRO, M.J.M.; PAULA, C.B.A.; RIBEIRO, I.S.; GOMES, R.F.; SOUZA, J.M.T.; MARINHO FILHO, J.D.B.; ARAÚJO, A.J.; FREIRE, R.S.; SOUSA, J.S.; COSTA FILHO, R.N.; FEITOSA, J.P.A.; DE PAULA, R.C.M. Dextran-based nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and curcumin in chemo-photodynamic cancer therapy. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 437, Part C, p. 128574, 2025.

CARVALHO, T.G.; LARA, P.; JORQUERA-CORDERO, C.; ARAGÃO, C.F.S.; OLIVEIRA, A.S.; GARCIA, V.B.; SOUZA, S.V.P.; SCHOMANN, T.; SOARES, L.A.L.;

GUEDES, P.M.M.; ARAÚJO JÚNIOR, R.F. Inhibition of murine colorectal cancer metastasis by targeting M2-TAM through STAT3/NF- κ B/AKT signaling using macrophage 1-derived extracellular vesicles loaded with oxaliplatin, retinoic acid, and *Libidibia ferrea*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 168, p. 115663, 2023.

CHAKKA, V.P.; ZHOU, T. Carboxymethylation of polysaccharides: Synthesis and bioactivities. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 165, p. 2425, 2020.

CHEN, J.; LIU, X.; ZHAO, S.; CHEN, H.; LU, T.; WANG, J.; HAN, J.; WU, W.; SHEN, X.; LI, C. Carboxymethylated alginate-resiquimod micelles reverse the immunosuppressive tumor microenvironment and synergistically enhance the chemotherapy and immunotherapy for gastric cancer. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [s. l.], v. 15, p. 35999, 2023.

CHEN, K.F.; PLAUNT, A.J.; LEIFER, F.G.; KANG, J.Y.; CIPOLLA, D. Recent advances in prodrug-based nanoparticle therapeutics. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 165, p. 219, 2021.

CHEN, P.M.; PAN, W.Y.; WU, C.Y.; YEH, C.Y.; KORUPALLI, C.; LUO, P.K.; CHOU, C.J.; CHIA, W.T.; SUNG, H.W. Modulation of tumor microenvironment using a TLR-7/8 agonist-loaded nanoparticle system that exerts low-temperature hyperthermia and immunotherapy for *in situ* cancer vaccination. **Biomaterials**, [s. l.], v. 230, p. 119629, 2020a.

CHEN, S.; WU, J.; TANG, Q.; XU, C.; HUANG, Y.; HUANG, D.; LUO, F.; WU, Y.; YAN, F.; WENG, Z.; WANG, S. Nano-micelles based on hydroxyethyl starch-curcumin conjugates for improved stability, antioxidant and anticancer activity of curcumin. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 228, p. 115398, 2020b.

CHIKARA, B.S.; PARANG, K. Global cancer statistics 2022: The trends projection analysis. **Chemical Biology Letters**, [s. l.], v. 10, p. 451, 2023.

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**, [s. l.], v. 18, p. 85, 2007.

DEY, S.; SREENIVASAN, K. Conjugation of curcumin onto alginate aqueous solubility and stability of curcumin. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 99, p. 499, 2014.

DELGOBO, C.L.; GORIN, P.A.J.; JONES, C.; IACOMINI, M. Gum heteropolysaccharide and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 47, p. 1207, 1998.

DE AZEVEDO, G.A.; HEINRICHS, M.C.; MORAES, A.M. Cashew tree gum for biomaterials engineering: A versatile raw material in consolidation. **Journal of Applied Polymer Science**, [s. l.], v. 139, p. 52484, 2022.

DE LIMA, L.R.M.; SILVA, M.F.S.; ARAÚJO, G.S.; RIBEIRO, F.O.S.; RIBEIRO, I.S.; PESSOA, C.; COSTA FILHO, R.N.; MARINHO FILHO, J.D.B.; ARAÚJO, A.J.; DA SILVA, D.A.; FEITOSA, J.P.A.; DE PAULA, R.C.M. Doxorubicin-galactomannan

nanoconjugates for potential cancer treatment. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 342, p. 122356, 2024.

DE PAULA, R.C.M.; HEATLEY, F.; BUDD, P.M. Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. **Polymer International**, [s. l.], v. 45, p. 27, 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**, [s. l.], v. 26, p. 177, 1995.

DE SÁ PINTO, A.P.; DE HOLANDA E SILVA, K.G.; MANSUR, C.R.E. Evaluation of the application of cashew gum as an excipient of produce tablets. **Polímeros**, [s. l.], v. 28, p. 302, 2018.

DING, C.; CHEN, C.; ZENG, X.; CHEN, H.; ZHAO, Y. Emerging strategies in stimuli-responsive prodrug nanosystems for cancer therapy. **ACS Nano**, [s. l.], v. 16, p. 13513, 2022.

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**, [s. l.], v. 182, p. 179, 2017.

EMAMI, J.; KAZEMI, M.; MIRIAN, M. Synthesis and *in vitro* evaluation of self-assembling biocompatible heparin-based targeting polymeric micelles for delivery of doxorubicin to leukemic cells. **Research in Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 20, p. 142, 2025.

FERRARI, R.; SPONCHIONI, M.; MORBIDELLI, M.; MOSCATELLI, D. Polymer nanoparticles for the intravenous delivery of anticancer drugs: The checkpoints on the road from the synthesis to clinical translation. **Nanoscale**, [s. l.], v. 10, p. 22701, 2018.

FERREIRA, C.R.N.; RAMOS, E.L.L.; ARAUJO, L.F.S.; SOUSA, L.M.S.; FEITOSA, J.P.A.; CUNHA, A.F.; OLIVEIRA, M.; MANO, J.F.; MACIEL, J.S. Synthesis and characterization of scaffolds produced under mild conditions based on oxidized cashew gums and carboxyethyl chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 176, p. 26, 2021.

GAO, H.; SEIDI, F.; CAI, Y.; SUN, Z.; BIAN, H.; DAI, H.; XU, T. Construction of curcumin-conjugated pH-responsive lignin-based nanoparticles for alleviating oxidative stress: Stability, antioxidant activity and biocompatibility. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 302, p. 140036, 2025.

GALLEGO-JARA, J.; LOZANO-TEROL, G.; SOLA-MARTÍNEZ, R.A.; CÁNOVAS-DÍAZ, M.; DE DIEGO PUENTE, T. A compressive review about Taxol[®]: History and future challenges. **Molecules**, [s. l.], v. 25, p. 5986, 2020.

GAVRILOV, M.; MONTEIRO, M.J. Derivation of the molecular weight distributions from size exclusion chromatography. **European Polymer Journal**, [s. l.], v. 65, p. 191, 2015.

GE, Y.; MA, Y.; LI, L. The application of prodrug-based nano-drug delivery strategy in cancer combination therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 146, p. 482, 2016.

GHAZAL, H.; WAQAR, A.; YASEEN, F.; SHAHID, M.; SULTANA, M.; TARIQ, M.; BASHIR, M.K.; TAHSEEN, H.; RAZA, T.; AHMAD, F. Role of nanoparticles in enhancing chemotherapy efficacy for cancer treatment. **Next Materials**, [s. l.], v. 2, p. 100128, 2024.

GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A.B.; AGGARWAL, B.B. Curcumin as "*Curecumin*": From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 75, p. 787, 2008.

GHORAN, S.H.; CALCATERRA, A.; ABBASI, M.; TAKTAZ, F.; NIESELT, K.; BABAEI, E. Curcumin-based nanoformulations: a promising adjuvant towards cancer treatment. **Molecules**, [s. l.], v. 27, p. 5236, 2022.

GLOBAL CANCER OBSERVATORY (GLOBOCAN). Cancer today. **International Agency for Research on Cancer/World Health Organization**, 2022. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/900-world-fact-sheet.pdf>

GUAN, H.; YIN, W.; ZHANG, X.; ZHAO, F.; CAI, T.; LING, X. Optimization of the process of acetylation and carboxymethylation for a polysaccharide from *Gastrodia elata* and antioxidant and immunomodulatory activities test. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 15, p. 8460, 2025.

HAN, H.H.; WANG, H.M.; JANGILI, P.; LI, M.; WU, L.; ZANG, Y.; SEDGWICK, A.C.; LI, J.; HE, X.P.; JAMES, T.D.; KIM, J.S. The design of small-molecule prodrugs and activatable phototherapeutics for cancer therapy. **Chemical Society Reviews**, [s. l.], v. 52, p. 879, 2023.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 52, p. 1145, 1963.

HIXSON, A.W.; CROWELL, J.H. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. **Industrial & Engineering Chemistry**, [s. l.], v. 23, p. 923, 1931.

HUANG, D.; SUN, L.; HUANG, L.; CHEN, Y. Nanodrug delivery systems modulate tumor vessels to increase the enhanced permeability and retention effect. **Journal of Personalized Medicine**, [s. l.], v. 11, p. 1, 2021.

INCA, Instituto Nacional do Câncer (Brasil). **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer. 2022. 160 p.

IONIȚĂ, S.; LINCUI, D.; MITRAN, R.A.; ZIKO, L.; SEDKY, N.K.; DEACONU, M.; BREZOIU, A.M.; MATEUS, C.; BERGER, D. Resveratrol encapsulation and release from pristine and functionalized mesoporous silica carriers. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, p. 203, 2022.

JADHAV, S.T.; SALUNKHE, V.R.; BHINGE, S.D.; HONMANE, S.M.; JADHAV, A.A. Development and evaluation of imiquimod-loaded nanoemulsion-based gel for the treatment of skin cancer. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 10, 2024.

JIA, D.; LU, Y.; LV, M.; WANG, F.; LU, X.; ZHU, W.; WEI, J.; GUO, W.; LIU, R.; LI, G.; WANG, R.; LI, J.; YUAN, F. Targeted co-delivery of resiquimod and a SIRP α variant by liposomes to activate macrophage immune responses for tumor immunotherapy. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 360, p. 858, 2023.

JORDAN, A.; WHYMARK, K.D.; SYDENHAM, J.; SNEDDON, H.F. A solvent-reagent selection guide for Steglich-type esterification of carboxylic acids. **Green Chemistry**, [s. l.], v. 23, p. 6405, 2021.

JÓZSA, L.; VASVÁRI, G.; SINKA, D.; NEMES, D.; UJHELYI, Z.; VECSENYÉS, M.; VÁRADI, J.; FENYVESI, F.; LEKLI, I.; GYÖNGYÖSI, A.; BÁCISKAY, I.; FEHÉR, P. Enhanced antioxidant and anti-inflammatory effects of self-nano and microemulsifying drug delivery systems containing curcumin. **Molecules**, [s. l.], v. 27, p. 6652, 2022.

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**, [s. l.], v. 99, p. 2039, 1977.

KAMAL, N.; ILOWEFAH, M.A.; HILLES, A.R.; ANUA, N.A.; AWIN, T.; ALSHWYEH, H.A.; ALDOSARY, S.K.; JAMBOCUS, N.G.S.; ALOSAIMI, A.A.; RAHMAN, A.; MAHMOOD, S.; MEDIANI, A. Genesis and mechanism of some cancer types and an overview on the role of diet and nutrition in cancer prevention. **Molecules**, [s. l.], v. 27, p. 1794, 2022.

KAMPAN, N.C.; MADONDO, M.T.; MCNALLY, O.M.; QUINN, M.; PLEBANSKI, M. Paclitaxel and its evolving role in the management of ovarian cancer. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2015, p. 21, 2015.

KANWAL, S.; NAVEED, M.; ARSHAD, A.; ARSHAD, A.; FIRDOUS, F.; FAISAL, A. YAMEEN, B. Reduction-sensitive dextran–paclitaxel polymer–drug conjugate: synthesis, self-assembly into nanoparticles, and in vitro anticancer efficacy. **Bioconjugate Chemistry**, [s. l.], v. 32, p. 2516, 2021.

KAWISH S.M.; SHARMA, S.; GUPTA, P.; AHMAD, F.J.; IQBAL, M.; ALSHABRMI, F.M.; ANWER, M.K.; FATHI-KARKAN, S.; RAHDAR, A.; ABOUDZADEH, M.A. Nanoparticle-based drug delivery platform for simultaneous administration of phytochemicals and chemotherapeutics: Emerging trends in cancer management. **Particle & Particle Systems Characterization**, [s. l.], p. 2400049, 2024.

KHAN, S.; SIMSEK, R.; FUENTES, J.D.B.; VOHRA, I.; VOHRA, S. Implication of toll-like receptors in growth and management of health and diseases: special focus as a promising druggable target to prostate cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1880, p. 189229, 2025.

KHARAT, M.; DU, Z.; ZHANG, G.; MCCLEMENTS, D.J. Physical and chemical stability of curcumin in aqueous solutions and emulsions: Impact of pH, temperature, and molecular environment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 65, p. 1525, 2017.

KLEIN, David. **Química Orgânica: Volume 2**. 2. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

KORSMEYER, R.W.; GURNY, R.; DOELKER, E.M.; BURI, P.; PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 15, p. 25, 1983.

KUTTAN, R.; BHANUMATHY, P.; NIRMALA, K.; GEORGE, M.C. Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). **Cancer Letters**, [s. l.], v. 29, p. 197, 1985.

KUZMINSKA, J.; SZYK, P.; MLYNARCZYK, D.T.; BAKUN, P.; MUSZALSKA-KOLOS, I.; DETTLAFF, K.; SOBCZAK, A.; GOSLINSKI, T.; JELINSKA, A. Curcumin derivatives in medicinal chemistry: potential applications in cancer treatment. **Molecules**, [s. l.], v. 29, p. 5321, 2024.

LACHOWICZ, D.; KARABASZ, A.; BZOWSKA, M.; SZUWARZYŃSKI, M.; KAREWICZ, A.; NOWAKOWSKA, M. Blood-compatible, stable micelles of sodium alginate – curcumin bioconjugate for anti-cancer applications. **European Polymer Journal**, [s. l.], v. 113, p. 208, 2019.

LAI, H.; DING, X.; YE, J.; DENG, J.; CUI, S. pH-responsive hyaluronic acid-based nanoparticles for targeted curcumin delivery and enhanced cancer therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 198, p. 111455, 2021.

LAN, Y.; SUN, Y.; YANG, T.; MA, X.; CAO, M.; LIU, L.; YU, S.; CAO, A.; LIU, Y. Co-delivery of paclitaxel by a capsaicin prodrug micelle facilitating for combination therapy on breast cancer. **Molecular Pharmaceutics**, [s. l.], v. 16, p. 3430–3440, 2019.

LASKAR, P.; SAMANTA, S.; GHOSH, S.K.; DEY, J. In vitro evaluation of pH-sensitive cholesterol-containing stable polymeric micelles for delivery of camptothecin. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 430, p. 305, 2014.

LEITE, Y.K.D.C.; OLIVEIRA, A.C.D.J.; QUELEMES, P.V.; NETO, N.M.A.; CARVALHO, C.E.S.D.; SOARES RODRIGUES, H.W.; ALVES, M.M.D.M.; CARVALHO, F.A.D.A.; ARCANJO, D.D.R.; SILVA-FILHO, E.C.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; CARVALHO, M.A.M.; SILVA, D.A.; LEITE, J.R.S. Novel scaffold based on chitosan hydrogels/phthalated cashew gum for supporting human dental pulp stem cells. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 16, p. 266, 2023.

LI, M.; ZHANG, L.; XUAN, Y.; ZHI, D.; WANG, W.; ZHANG, W.; ZHAO, Y.; ZHANG, S.; ZHANG, S. pH-sensitive hyaluronic acid-targeted prodrug micelles constructed via a one-step reaction for enhanced chemotherapy. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 206, p. 489, 2022.

LI, S.; ZHAO, W.; LIANG, N.; XU, Y.; KAWASHIMA, Y.; SUN, S. Multifunctional micelles self-assembled from hyaluronic acid conjugate for enhancing anti-tumor effect of paclitaxel. **Reactive and Functional Polymers**, [s. l.], v. 152, p. 104608, 2020.

LIMA, I.; MORENO, L.; DIAS, S.; SILVA, D.; OLIVEIRA, A.C.; SOARES, L.; SOUSA, R.; DITZ, D.; ROLIM, H.; NUNES, L. Acetylated cashew gum nanoparticles for mesalazine delivery. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, [s. l.], v. 5, p. 100265, 2023.

LIN, X.; WANG, Q.; DU, S.; GUAN, Y.; QIU, J.; CHEN, X.; YUAN, D.; CHEN, T. Nanoparticles for co-delivery of paclitaxel and curcumin to overcome chemoresistance against breast cancer. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 79, p. 104050, 2023.

LIU, Y.; QIAO, L.; ZHANG, S.; WAN, G.; CHEN, B.; ZHOU, P.; ZHANG, N.; WANG, Y. Dual pH-responsive multifunctional nanoparticles for targeted treatment of breast cancer by combining immunotherapy and chemotherapy. **Acta Biomaterialia**, [s. l.], v. 66, p. 310, 2018.

LIU, Y.; SHEN, Z.; ZHU, T.; LU, W.; FU, Y. Curcumin enhances the anti-cancer efficacy of paclitaxel in ovarian cancer by regulating the MiR-9-5p/BRCA1 axis. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, p. 1014933, 2023a.

LIU, Z.; LIU, Y.; LIU, H.; LV, R.; LIU, B.; ZHAO, L.; YIN, T.; ZHANG, Y.; HE, H.; GOU, J.; TANG, X.; YANG, L.; GAO, S. Design of carboxymethylcellulose-conjugated polymeric prodrug micelles for enhanced in vivo performance of docetaxel. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 253, p. 127690, 2023b.

LO, Y.L.; LI, C.Y.; CHOU, T.F.; YANG, C.P.; WU, L.L.; CHEN, C.J.; CHANG, Y.H. Exploring in vivo combinatorial chemo-immunotherapy: Addressing p97 suppression and immune reinvigoration in pancreatic cancer with tumor microenvironment-responsive nanoformulation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 175, p. 116660, 2024.

LU, R.; GROER, C.; KLEINDL, P.A.; MOULDER, K.R.; HUANG, A.; HUNT, J.R.; CAI, S.; AIRES, D.J.; BERKLAND, C.; FORREST, M.L. Formulation and preclinical evaluation of a toll-like receptor 7/8 agonist as an anti-tumoral immunomodulator. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 306, p. 165, 2019.

LUO, C.Q.; XING, L.; CUI, P.F.; QIAO, J.B.; HE, Y.J.; CHEN, B.A.; JIN, L.; JIANG, H. L. Curcumin-coordinated nanoparticles with improved stability for reactive oxygen species-responsive drug delivery in lung cancer therapy. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 12, p. 855, 2017.

MA, Q.; ZHANG, W.; WU, K.; SHI, L. The roles of KRAS in cancer metabolism, tumor microenvironment and clinical therapy. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 24, p. 14, 2025.

MA, W.; ZHAO, Q.; ZHU, S.; WANG, X.; ZHANG, C.; MA, D.; LI, N.; YIN, Y. Construction of glutathione-responsive paclitaxel prodrug nanoparticles for image-guided targeted delivery and breast cancer therapy. **RSC Advances**, [s. l.], v. 14, p. 12796, 2024.

MACIEL, J.S.; AZEVEDO, S.; CORREIA, C.R.; COSTA, A.M.S.; COSTA, R.R.; MAGALHÃES, F.A.; MONTEIRO, A.A.S.; COSTA, J.F.G.; DE PAULA,

R.C.M.; FEITOSA, J.P.A.; MANO, J. F. Oxidized cashew gum scaffolds for tissue engineering. **Macromolecular Materials and Engineering**, [s. l.], v. 304, p. 1800574, 2019.

MAEDA, H.; UEDA, M.; MORINAGA, T.; MATSUMOTO, T. Conjugation of poly(styrene-co-maleic acid) derivatives to the antitumor protein neocarzinostatin: Pronounced improvements in pharmacological properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 28, p. 455, 1985.

MATHEW, A.A.; ZAKKARIYA, Z.T.; ASHOKAN, A.; MANOHAR, M.; KEECHILAT, P.; NAIR, S.V.; KOYAKUTTY, M. 5-FU mediated depletion of myeloid suppressor cells enhances T-cell infiltration and anti-tumor response in immunotherapy-resistant lung tumor. **International Immunopharmacology**, [s. l.], v. 120, p. 110129, 2023.

MELO, A.M.A.; OLIVEIRA, M.R.F; FURTADO, R.F.; BORGES, M.F.; BISWAS, A.; CHENG, H.N.; ALVES, C.R. Preparation and characterization of carboxymethyl cashew gum grafted with immobilized antibody for potential biosensor application. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 228, p. 115408, 2020.

MEYER, T.; SURBER, C.; FRENCH, L.E.; STOCKFLETH, E. Resiquimod, a topical drug for viral skin lesions and skin cancer. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, [s. l.], v. 22, p. 149, 2013.

MILOBEDZKA, J.; KOSTANECKI, S.; LAMPE, V. Zur kenntnis des curcumins. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, [s. l.], v. 43, p. 2163, 1910.

MISHRA, A.P.; SWETANSHU; SINGH, P.; YADAV, S.; NIGAM, M.; SEIDEL, V.; RODRIGUES, C.F. Role of the dietary phytochemical curcumin in targeting cancer cell signalling pathways. **Plants**, [s. l.], v. 12, p. 1782, 2023.

MOR, N.; RAGHAV, N. Design and development of carboxymethylcellulose ester of curcumin as sustained release delivery system in liver. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 231, p. 123296, 2023.

MOURA NETO, 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**, [s. l.], v. 22, p. 1953, 2011.

MURPHY, E.J.; FEHRENBACH, G.W.; ABIDIN, I.Z.; BUCKLEY, C.; MONTGOMERY, T.; POGUE, R.; MURRAY, P.; MAJOR, I.; REZOAGLI, E. Polysaccharides – Naturally occurring immune modulators. **Polymers (Basel)**, [s. l.], v. 15, p. 2373, 2023.

NATARAJ, A.; GOVINDAN, S.; RAJENDRAN, A.; RAMANI, P.; SUBBAIAH, K.A.; MUNEKATA, P.E.S.; PATEIRO, M.; LORENZO, J.M. Effects of carboxymethyl modification on the acidic polysaccharides from *Calocybe indica*: physicochemical properties, antioxidant, antitumor and anticoagulant activities. **Antioxidants**, [s. l.], v. 12, p. 105, 2022.

NAZLI, A.; KHAN, M.Z.I.; RÁCZ, A.; BÉNI, S. Acid-sensitive prodrugs; a promising approach for site-specific and targeted drug release. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 276, p. 116699, 2024.

NEISES, B.; STEGLICH, W. Simple method for the esterification of carboxylic acids. **Angewandte Chemie**, [s. l.], v. 17, p. 522, 1978.

NELSON, K.M.; DAHLIN, J.L.; BISSON, J.; GRAHAM, J.; PAULI, G.; WALTERS, M.A. The essential medicinal chemistry of curcumin. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 60, p. 1620, 2017.

NGUYEN, A.; BÖTTGER, R.; LI, S.D. Recent trends in bioresponsive linker technologies of prodrug-based self-assembling nanomaterials. **Biomaterials**, [s. l.], v. 275, p. 120955, 2021.

NOORI, A.; NAMINI, M.S.; AZARYAN, E.; ATAEI, M.; BEHESHTIZADEH, N. Nanofibers for paclitaxel delivery: A promising avenue for cancer therapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 192, p. 118607, 2025.

OLIVEIRA, A.C.J.; SILVA, E.B.; OLIVEIRA, T.C.; RIBEIRO, F.O.S.; NADVORNY, D.; OLIVEIRA, J.W.F.; BORREGO-SÁNCHEZ, A.; RODRIGUES, K.A.F.; SILVA, M.S.; ROLIM-NETO, P.J.; VISERAS, C.; SILVA-FILHO, E.D.; SILVA, D.A.; CHAVES, L.L.; SOARES, M.F.R.; SOARES-SOBRINHO, J.L. pH-responsive phthalate cashew gum nanoparticles for improving drugs delivery and anti-*Trypanosoma cruzi* efficacy. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 230, p. 123272, 2023.

OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. **Câncer**, 2025. Disponível em: <<https://paho.org/pt/topicos/cancer>>. Acesso em: 12 de set. 2025.

ÖZTÜRK, K.; KAPLAN, M.; ÇALIŞ, S. Effects of nanoparticle size, shape, and zeta potential on drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 666, p. 124799, 2024.

PAULA, R.C.M. de; PAULA, H.C.B. de; FEITOSA, J.P.A. (org). **Polissacarídeos da biodiversidade brasileira**. E-book. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 2018. 336 p.

PARKER, J.M.; ZHAO, L.; MAYBERRY, T.G.; COWAN, B.C.; WAKEFIELD, M.R.; FANG, Y. From spice to survival: The emerging role of curcumin in cancer immunotherapy. **Cancers**, [s. l.], v. 17, p. 2491, 2025.

PILCH, Z.; TONECKA, K.; BRANIEWSKA, A.; SAS, Z.; SKORZYNSKI, M.; BOON, L.; GOLAB, J.; MEYAARD, L.; RYGIEL, T.P. Antitumor activity of TLR7 is potentiated by CD200R antibody leading to changes in the tumor microenvironment. **Cancer Immunology Research**, [s. l.], v. 6, p. 930, 2018.

PITOMBEIRA, N.A.O.; VERAS NETO, J.G.; 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**, [s. l.], v. 117, p. 610, 2015.

POLAT, H.; KUTLUAY, G.; POLAT, M. Analysis of dilution induced disintegration of micellar drug carriers in the presence of inter and intra micellar species. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s. l.], v. 601, p. 124989, 2020.

PHAN, N.H.; LY, T.T.; PHAM, M.N.; LUU, T.D.; VO, T.V.; TRAN, P.H.L.; TRAN, T.T.D. A comparison of fucoidan conjugated to paclitaxel and curcumin for the dual delivery of cancer therapeutic agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 18, p. 1349, 2018.

RAJORA, A.D.; BAL, T. Evaluation of cashew gum-polyvinyl alcohol (CG-PVA) electrospun nanofiber mat for scarless wound healing in a murine model. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 240, p. 124417, 2023.

RASHIDZADEH, H.; JAMAL, S.; REZAEI, T.; ZAMANI, S.; SARIJLOO, E.; RAMAZANI, A. pH-sensitive curcumin conjugated micelles for tumor triggered drug delivery. **Journal of Biomaterials Science (Polymer Edition)**, [s. l.], v. 32, p. 320, 2021.

RESHMA, P.L.; UNNIKRISHNAN, B.S.; PREETHI, G.U.; SYAMA, H.P.; ARCHANA, M.G.; REMYA, K.; SHIJI, R.; SREEKUTTY, J.; SREELEKHA, T.T. Overcoming drug-resistance in lung cancer cells by paclitaxel loaded galactoxyloglucan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 136, p. 266, 2019.

RIBEIRO, I.S.; LEONARDO, A.L.S.; CARNEIRO, M.J.M.; COSTA FILHO, R.N.; FREIRE, R.S.; SOUSA, J.S.; ARAÚJO, G.S.; MARINHO FILHO, J.D.B.; ARAÚJO, A.J.; PAULA, H.C.B.; FEITOSA, J.P.A.; DE PAULA, R. C. M. Smart solid drug delivery systems: Exploring the pH sensitivity of cashew gum doxorubicin prodrug. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 35, p. 1, 2024.

RIBEIRO, I.S.; PONTES, F.J.G.; CARNEIRO, M.J.M.; SOUSA, N.A.; PINTO, V.P.T.; RIBEIRO, F.O.S.; SILVA, D.A.; ARAÚJO, G.S.; MARINHO FILHO, J.D.B.; ARAÚJO, A.J.; PAULA, H.C.B. FEITOSA, J.P.A.; DE PAULA, R.C.M. Poly(ϵ -caprolactone) grafted cashew gum nanoparticles as an epirubicin delivery system. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 179, p. 314, 2021.

RICHTER, A.R.; CARNEIRO, M.J.; DE SOUSA, N.A.; PINTO, V.P.T.; FREIRE, R.S.; DE SOUSA, J.S.; MENDES, J.F.S.; FONTENELLE, R.O.S.; FEITOSA, J.P.A.; PAULA, H.C.B.; GOYCOOLEA, F.M.; DE PAULA, R.C.M. Self-assembling cashew gum-graft-poly lactide copolymer nanoparticles as a potential amphotericin B delivery matrix. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 152, p. 492, 2020.

RICHTER, A.R.; VERAS-NETO, J.G.; SOUSA, J.S.; MENDES, J.F.S.; FONTENELLE, R.O.S.; SILVA, S.A.N.M.; MARINHO-FILHO, J.D.B.; ARAÚJO, A.J.; FEITOSA, J.P.A.; PAULA, H.C.B.; GOYCOOLEA, F.M.; DE PAULA, R.C.M. Effect of acyl chain length on hydrophobized cashew gum self-assembling nanoparticles: Colloidal properties and amphotericin B delivery. **Colloids Interfaces**, [s. l.], v. 6, p. 65, 2022.

RODRIGUES, F.C.; KUMAR, N.V.; THAKUR, G. Developments in the anticancer activity of structurally modified curcumin: An up-to-date review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 177, p. 76, 2019.

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**, [s. l.], v. 16, p. 31, 1993.

ROKHGIREH, S.; CHAICHIAN, S.; KASHI, A.M.; ALI, B.H.; TEHERMANESH, K.; AJDARY, M.; NASIR, S.; MAHABADI, V.P.; ESLAHI, N. Curcumin-gold nanoshell mediated near-infrared irradiation on human ovarian cancer cell: in vitro study. **Medical Oncology**, [s. l.], v. 42, p. 145, 2025.

SAGHATELYAN, T.; TANANYAN, A.; JANOYAN, N.; TADEVOSYAN, A.; PETROSYAN, H.; HOVHANNISYAN, A.; HAYRAPETYAN, L.; ARUSTAMYAN, M.; ARNHOLD, J.; ROTMANN, A.R.; HOVHANNISYAN, A.; PANOSSIAN, A.; Efficacy and safety of curcumin in combination with paclitaxel in patients with advanced, metastatic breast cancer: A comparative, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Phytotherapy**, [s. l.], v. 70, p. 153218, 2020.

SAKHI, M.; KHAN, A.; IQBAL, Z.; KHAN, I.; RAZA, A.; ULLAH, A.; NASIR, F.; KHAN, S.A. Design and characterization of paclitaxel-loaded polymeric nanoparticles decorated with trastuzumab for the effective treatment of breast cancer. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, p. 1, 2022.

SAMAAN, T.M.A.; SAMEC, M.; LISKOVA, A.; KUBATKA, P.; BÜSSELBERG, D. Paclitaxel's mechanistic and clinical effects on breast cancer. **Biomolecules**, [s. l.], v. 9, p. 789, 2019.

SANTOS, M.O.; LIMA, F.C.S.; MARTINS, L.F.L.; OLIVEIRA, J.F.P.; ALMEIDA, L.M.; CANCELA, M.C. Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [s. l.], v. 69, p. e-213700, 2023.

SANTOS, R.B.; NAKAMA, K.A.; PACHECO, C.O.; GOMES, M.G.; SOUZA, J.F.; PINTO, A.C.S.; OLIVEIRA, F.A.; FONSECA, A.L.; VAROTTI, F.; FAJARDO, A.R.; HAAS, S.E. Curcumin-loaded nanocapsules: Influence of surface characteristics on technological parameters and potential antimalarial activity. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 118, p. 111356, 2021.

SARIKA, P.R.; JAMES, N.R.; KUMAR, P.R.A.; RAJ, D.K. Galactosylated alginate-curcumin micelles for enhanced delivery of curcumin to hepatocytes. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 86, p. 1, 2016.

SARIKA, P.R.; JAMES, N.R.; NISHNA, N.; KUMAR, P.R.A.; RAJ, D.K. Galactosylated pullulan-curcumin conjugate micelles for site specific anticancer activity to hepatocarcinoma cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 133, p. 347, 2015b.

SARIKA, P.R.; JAMES, N.R.; KUMAR, P.R.A.; RAJ, D.K.; KUMARY, T.V. Gum arabic-curcumin conjugate micelles with enhanced loading for curcumin delivery to hepatocarcinoma cells. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 134, p. 167, 2015a.

SAURAJ; KUMAR, V.; KUMAR, B.; PRIYADARSHI, R.; DEEBA, F.; KULSHRESHTHA, A.; KUMAR, A.; AGRAWAL, G.; GOPINATH, P.; NEGI, Y.S. Redox responsive xylan-SS-

curcumin prodrug nanoparticles for dual drug delivery in cancer therapy. **Materials Science & Engineering C Materials Biological Applications**, [s. l.], v. 107, p. 110356, 2020.

SCHNEIDER, C.; GORDON, O.N.; EDWARDS, R.L.; LUIS, P.B. Degradation of curcumin: from mechanism to biological implications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 63, p. 7606, 2015.

SCHRAUFSTÄTTER, E.; BERNT, H. Antibacterial action of curcumin and related compounds. **Nature**, [s. l.], v. 164, p. 456, 1949.

SHARMA, O.P. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 25, p. 1811, 1976.

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

SILVA, E.L.V.; OLIVEIRA, A.C.J.; MOREIRA, L.M.C.C.; SILVA-FILHO, E.C.; WANDERLEY, A.G.; SOARES, M.F.L.R.; SOARES-SOBRINHO, J.L. Insulin-loaded nanoparticles based on acetylated cashew gum/chitosan complexes for oral administration and diabetes treatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 242, p. 124737, 2023.

SILVA, F.E.F.; BATISTA, K.A.; DI-MEDEIROS, M.C.B.; SILVA, C.N.S.; MOREIRA, B.R.; FERNANDES, K.F. A stimuli-responsive and bioactive film based on blended polyvinyl alcohol and cashew gum polysaccharide. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 58, p. 927, 2016

SON, G.H.; LEE, B.J.; CHO, C.W. Mechanisms of drug release from advanced drug formulations such as polymeric-based drug-delivery systems and lipid nanoparticles. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, [s. l.], v. 47, p. 287, 2017.

SORDO-BAHAMONDE, C.; LORENZO-HERRERO, S.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, A.P.; MARTÍNEZ-PÉREZ, A.; RODRIGO, J.P.; GARCÍA-PEDRERO, J.M.; GONZALEZ, S. Chemo-immunotherapy: A new trend in cancer treatment. **Cancers (Basel)**, [s. l.], v. 15, p. 2912, 2023.

SOUZA, M.V.N. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. **Química Nova**, [s. l.], v. 27, p. 308, 2004.

SOUZA, S.V.P.; AGUIAR, A.C.V.; ALBUQUERQUE, E.C.S.; EICH, C.; CRUZ, L.J.; LARA, P.; JORQUERA-CORDERO, C.; GOMES, R.F.; de PAULA, R.C.M.; FREIRE, R.S.; ARAÚJO JÚNIOR, R.F. M1 macrophage extracellular vesicles and TLR3 agonist nanoparticles down-regulate immunosuppression and metastasis via AKT/TAM in triple-negative breast cancer. **Molecular Carcinogenesis**, [s. l.], v. 64, p. 1450, 2025.

SU, Y.; LIU, Y.; XU, X.; ZHOU, J.; XU, L.; XU, X.; WANG, D.; LI, M.; CHEN, K.; WANG, W. On-demand versatile prodrug nanomicelle for tumor-specific bioimaging and photothermal-chemo synergistic cancer therapy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [s. l.], v. 10, p. 1944, 2018.

SEPSEY, A.; BACSKAY, I.; FELINGER, A. Polydispersity in size-exclusion chromatography: A stochastic approach. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1365, p. 156, 2014.

SRIMAL, R.C.; DHAWAN, B.N. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 25, p. 447, 1973.

SRINIVASAN, M. Effect of curcumin on blood sugar as seen in a diabetic subject. **Indian Journal of Medical Sciences**, [s. l.], v. 26, p. 269, 1972.

STONE, B.; SVENSSON, B.; COLLINS, M.; RASTALL, R. **Polysaccharide degradation**. In: Fraser-Reid, B.O.; Tatsuta, K.; Thiem, J. (org.). *Glycoscience*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2. ed., p. 2325, 2008.

TAMBUNLERTCHAI, S.; GEARY, S.M.; SALEM, A.K. Topically applied resiquimod versus imiquimod as a potential adjuvant in melanoma treatment. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, p. 2076, 2022.

THAUVIN, C.; WIDMER, J.; MOTTAS, I.; HOCEVAR, S.; ALLÉMANN, E.; BOURQUIN, C.; DELIE, F. Development of resiquimod-loaded modified PLA-based nanoparticles for cancer immunotherapy: A kinetic study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 139, p. 253, 2019.

TIAN, C.; ASGHAR, S.; XU, Y.; CHEN, Z.; ZHANG, M.; HUANG, L.; YE, J.; PING, Q.; XIAO, Y. The effect of the molecular weight of hyaluronic acid on the physicochemical characterization of hyaluronic acid-curcumin conjugates and in vitro evaluation in glioma cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 165, p. 45, 2018.

TSAKOS, M.; SCHAFFERT, E.S.; CLEMENT, L.L.; VILLADSEN, N.L.; POULSEN, T.B. Ester coupling reactions – An enduring challenge in the chemical synthesis of bioactive natural products. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 32, p. 605, 2015.

Tufail, M.; Jiang, C.H.; Li, N. Immune evasion in cancer: mechanisms and cutting-edge therapeutic approaches. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 10, p. 227, 2025.

VINOD, N.; HWANG, D.; AZAM, S.H.; VAN SWEARINGEN, A.E.D.; WAYNE, E.; FUSSELL, S.C.; SOKOLSKY-PAPKOV, M.; PECOT, C.V.; KABANOV, A.V. High-capacity poly(2-oxazoline) formulation of TLR 7/8 agonist extends survival in a chemo-insensitive, metastatic model of lung adenocarcinoma. **Science Advances**, [s. l.], v. 6, p. 1, 2020.

VOGEL, H.A.; PELLETIER, J. Curcumin-biological and medicinal properties. **Journal de Pharmacie**, [s. l.], v. 2, p. 24, 1815.

WADHAWAN, A.; CHATTERJEE, M.; SINGH, G. Present scenario of bioconjugates in cancer therapy: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, p. 5243, 2019.

WANG, W.; LI, M.; ZHANG, Z.; CUI, C.; ZHOU, J.; YIN, L.; LV, H. Design, synthesis and evaluation of multi-functional tLyP-1-hyaluronic acid-paclitaxel conjugate endowed with broad anticancer scope. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 156, p. 97, 2017.

WANG, Y.J.; PAN, M.H.; CHENG, A.L.; LIN, L.I.; HO, Y.S.; HSIEH, C.Y.; LIN, J.K. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 15, p. 1867, 1997.

WANG, Z.; WANG, D.; LIU, X.; WU, H.; LIU, Y.; GE, Y.; YAN, G.; TANG, R. Dynamic carboxymethyl chitosan-based nano-prodrugs precisely mediate robust synergistic chemotherapy. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 291, p. 119671, 2022.

WIDMER, J.; THAUVIN, C.; MOTTAS, I.; NGUYEN, V.N.; DELIE, F.; ALLÉMANN, E.; BOURQUIN, C. Polymer-based nanoparticles loaded with a TLR7 ligand to target the lymph node for immunostimulation. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 535, p. 444, 2018.

WU, Q.; HU, Y.; YU, B.; HU, H.; XU, F.J. Polysaccharide-based tumor microenvironment-responsive drug delivery systems for cancer therapy. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 362, p. 19, 2023a.

WU, F.; AN, X.; LI, S.; QIU, C.; ZHU, Y.; YE, Z.; SONG, S.; WANG, Y.; SHEN, D.; DI, X.; YAO, Y.; ZHU, W.; JIANG, X.; SHI, X.; CHEN, R.; KOU, L. Enhancing chemioimmunotherapy for colorectal cancer with paclitaxel and alantolactone via CD44-Targeted nanoparticles: A STAT3 signaling pathway modulation approach. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 20, p. 100993, 2025a.

WU, W.; CHEN, R.; GAO, M.; CAI, Y.; BAI, H.; YANG, C.; LI, D.; WANG, Y.; GONG, M. Effects of extraction and modifications on physicochemical characteristics and bioactivities of lemon (*Citrus limon* L.) polysaccharides. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 65, p. 105943, 2025b.

WU, Y.; YANG, Y.; LV, X.; GAO, M.; GONG, X.; YAO, Q.; LIU, Y. Nanoparticle-based combination therapy for ovarian cancer. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 18, p. 1965, 2023b.

XIE, L.; SHEN, M.; WANG, Z.; XIE, J. Structure, function and food applications of carboxymethylated polysaccharides: a comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 118, Part A, p. 539-557, 2021.

XU, L.; MIAO, J.; XU, D.; MO, X.; WANG, J.; CHEN, S.; LIU, B.; GE, G.; ZHU, X.; DENG, H. Macrophage-targeted polysaccharide nano-immunomodulators with spatial- and time-programmed drug release for cancer therapy. **Nano Today**, [s. l.], v. 66, p. 102893, 2026.

YADAV, N.; FRANCIS, A.P.; PRIYA, V.V.; PATIL, S.; MUSTAQ, S.; KHAN, S.S.; ALZHRANI, K.J.; BANJER, H.J.; MOHAN, S.K.; MONY, U.; RAJAGOPALAN, R. Polysaccharide-drug conjugates: A tool for enhanced cancer therapy. **Polymers**, [s. l.], v. 14, p. 950, 2022.

YAN, Y.; DING, H. pH-responsive nanoparticles for cancer immunotherapy: A brief review. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 10, p. 1613, 2020.

YIN, W., QIAN, S. Delivery of cisplatin and resiquimod in nanomicelles for the chemoimmunotherapy of ovarian cancer. **Cancer Nanotechnology**, [s. l.], v. 13, 2022.

YUAN, H.; GUI, H.; CHEN, S.; ZHU, L.; WANG, C.; JING, Q.; LV, H.; WAN, Q.; WANG, S.; ZHOU, S.; REN, X.; NIE, Y.; LI, L. Regulating tumor-associated macrophage polarization by cyclodextrin-modified PLGA nanoparticles loaded with R848 for treating colon cancer. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 19, p. 3589, 2024.

ZENG, L.; AN, L.; WU, X. Modeling drug-carrier interaction in the drug release from nanocarriers. **Journal of Drug Delivery**, [s. l.], v. 2011, p. 1, 2011.

ZHANG, J.; SHU, J.; STOUT, R.W.; RUSSO, P.S.; LIU, Z. Solubilization of Paclitaxel with Natural Compound Rubusoside toward Improving Oral Bioavailability in a Rodent Model. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 16, p. 1104, 2024.

ZHANG, X.; LI, X.; YOU, Q.; ZHANG, X. Prodrug strategy for cancer cell-specific targeting: A recent overview. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 139, p. 542, 2017.

ZHANG, Y.; YUAN, T.; LI, Z.; LUO, C.; WU, Y.; ZHANG, J.; ZHANG, X.; FAN, W. Hyaluronate-based self-stabilized nanoparticles for immunosuppression reversion and immunochemotherapy in osteosarcoma treatment. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, [s. l.], v. 7, p. 1515, 2021.

ZHAO, L.; DING, X.; KHAN, I.M.; YUE, L.; ZHANG, Y.; WANG, Z. Preparation and characterization of curcumin/chitosan conjugate as an efficient photodynamic antibacterial agent. **Carbohydrate Polymer**, [s. l.], v. 313, p. 120852, 2023.

ZHENG, Y.; JIA, R.; LI, J.; TIAN, X.; QIAN, Y. Curcumin- and resveratrol-co-loaded nanoparticles in synergistic treatment of hepatocellular carcinoma. **Journal of Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 20, p. 339, 2022.

ZHENG, B.; MCCLEMENTS, D.J. Formulation of more efficacious curcumin delivery systems using colloid science: Enhanced solubility, stability, and bioavailability. **Molecules**, [s. l.], v. 25, p. 1, 2020.

ZHOU, Z.; LI, P.; CHEN, R.; CAI, X.; ZHANG, W.; FAN, P.; SU, J. A review of curcumin-mediated photodynamic bactericidal technology for food preservation: limitations and improvement strategies. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 131, p. 104802, 2025.

ZHUANG, W.R.; WANG, Y.; CUI, P.F.; XING, L.; LEE, J.; KIM, D.; JIANG, H.L.; OH, Y.K. Applications of π - π stacking interactions in the design of drug-delivery systems. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 294, p. 311, 2019.

ŻWAWIAK, J.; ZAPRUTKO, L. A brief history of taxol. **Journal of Medical Science**, [s. l.], v. 1, p. 83, 2014.

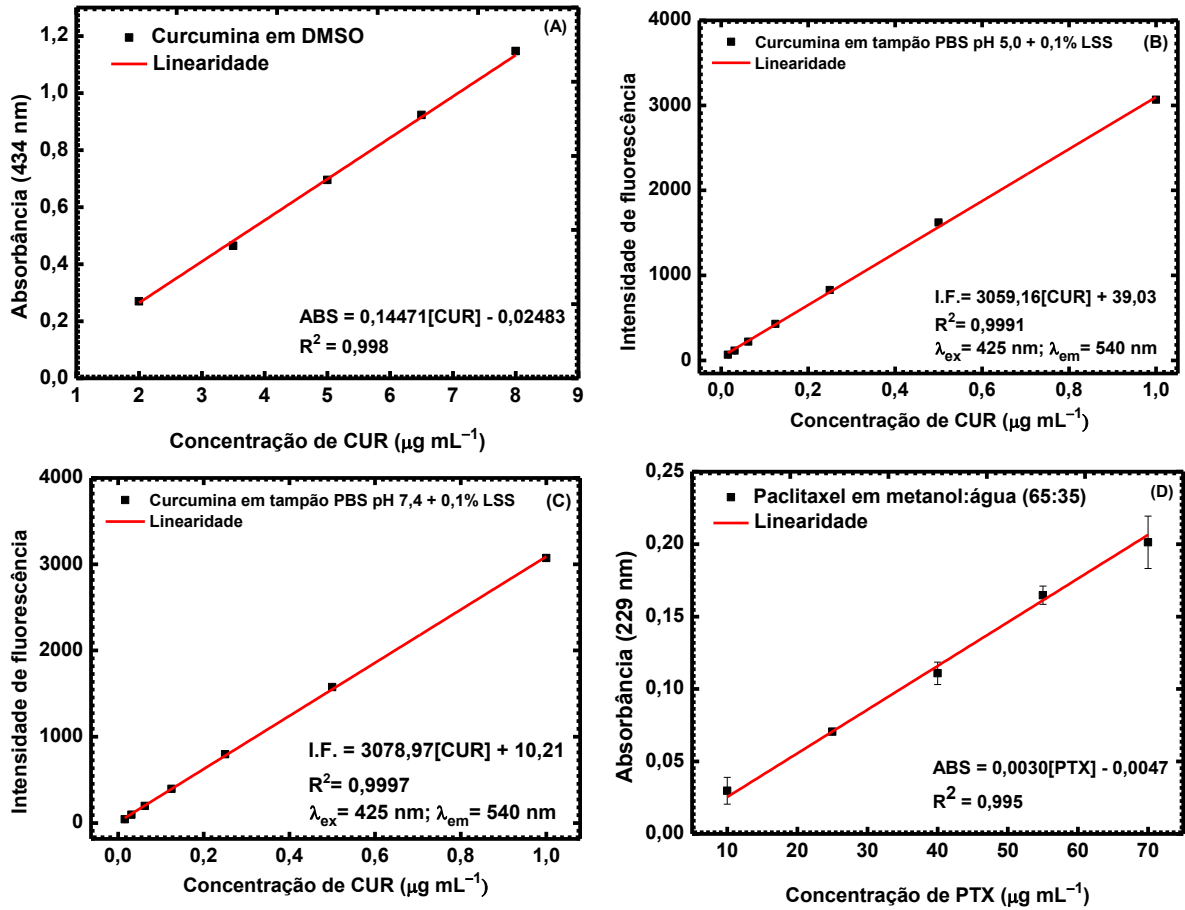
**APÊNDICE A – PLANILHA EXCEL DOS CÁLCULOS POR
APROXIMAÇÕES SUCESSIVAS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE
GRUPOS ÁCIDO NA GC (A) E GCCM (B)**

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
(A)	Degree of Substitution (DS)				Reação											
2	Dados:	GC			NaOH + -CH ₂ COOH → -CH ₂ COO ⁻ Na ⁺ + H ₂ O											
3	MM _{UG}	162 g/mol														
4	MM _{UGCM}	206 g/mol														
5	[NaOH]		0,0978 (mol/L)													
6	P.E. 1		0,2188 (mL)													
7	P.E. 2		0,1859 (mL)													
8																
9	Amostra	Massa de GC (mg)	n _{UG} (mmol)	DS _{abs}												
10	1	79,1	0,488271605	0,043825												
11	2	57,9	0,357407407	0,050869												
12																
13	Aproximações Sucessivas 1				Aproximações Sucessivas 2				Aproximações Sucessivas 3							
14	Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}					
15	1	0,480728715	0,044512922		1	0,480612	0,044524		1	0,48061	0,044524					
16	2	0,351014582	0,051795626		2	0,3509	0,051812		2	0,350898	0,051813					
17																
18	Aproximações Sucessivas 4				Aproximações Sucessivas 5				Aproximações Sucessivas 6				DS médio	0,048168		
19	Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}					
20	1	0,480610364	0,044523884		1	0,48061	0,044524		1	0,48061	0,044524					
21	2	0,350898154	0,051812812		2	0,350898	0,051813		2	0,350898	0,051813					

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
(B)	Degree of Substitution (DS)				Reação											
2	Dados:	GCCM 55°C 3 h 1:2:1			NaOH + -CH ₂ COOH → -CH ₂ COO ⁻ Na ⁺ + H ₂ O											
3	MM _{UG}	162 g/mol														
4	MM _{UGCM}	220 g/mol														
5	[NaOH]		0,0978 (mol/L)													
6	P.E. 1		0,613 (mL)													
7	P.E. 2		0,619 (mL)													
8																
9	Amostra	Massa de GCCM (mg)	n _{UG} (mmol)	DS _{abs}												
10	1	25,9	0,15987654	0,374986												
11	2	25,2	0,15555556	0,389174												
12																
13	Aproximações Sucessivas 1				Aproximações Sucessivas 2				Aproximações Sucessivas 3							
14	Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}					
15	1	0,140953022	0,42532894		1	0,138748	0,432088		1	0,138457	0,432995					
16	2	0,136532011	0,44339931		2	0,134245	0,450955		2	0,133932	0,452007					
17																
18	Aproximações Sucessivas 4				Aproximações Sucessivas 5				Aproximações Sucessivas 6				DS médio	0,442656		
19	Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}		Amostra	n _{UGM}	DS _{abs}					
20	1	0,138418499	0,43311696		1	0,138413	0,433133		1	0,138413	0,433136					
21	2	0,13888416	0,45215413		2	0,138882	0,452175		2	0,138882	0,452177					

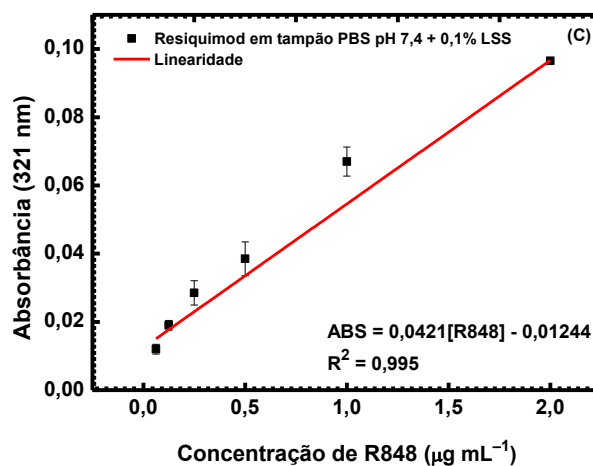
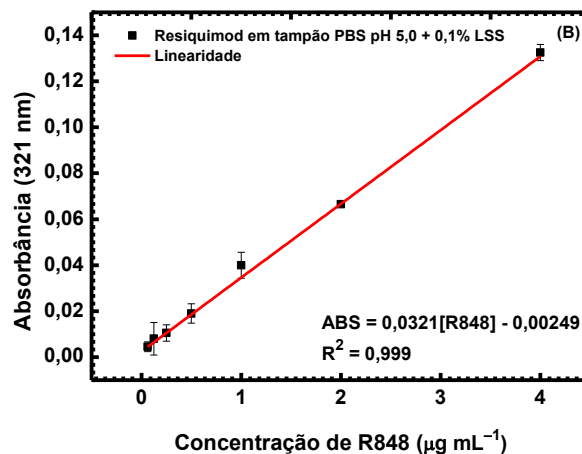
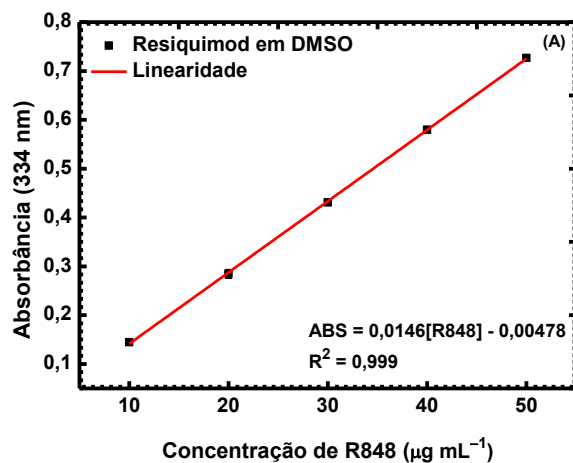
Fonte: dados da pesquisa.

**APÊNDICE B – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DA CURCUMINA EM DMSO
POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS (A) E EM PBS POR FLUORESCÊNCIA (B
E C) E DO PACLITAXEL POR CLAE (D)**



Fonte: dados da pesquisa.

APÊNDICE C – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DO RESIQUIMOD EM DMSO
(A) E EM PBS POR ESPECTROSCOPIA UV-VISÍVEL (B E C)



Fonte: dados da pesquisa.