



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MAYRLA ROCHA LIMA CARDIAL

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DE GOMA DE CAJUEIRO
(*Anacardium occidentale L.*) HIDROFOBIZADA PARA O DESENVOLVIMENTO
DE SISTEMAS DE CARREAMENTO DE FÁRMACOS

FORTALEZA
2019

MAYRLA ROCHA LIMA CARDIAL

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DE GOMA DE CAJUEIRO (*Anacardium occidentale L.*) HIDROFOBIZADA PARA O DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE CARREAMENTO DE FÁRMACOS

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

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

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Biblioteca Universitária

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

C257n Cardial, Mayrla Rocha Lima.

Nanopartículas auto-organizadas de goma de cajueiro (*anacardium occidentale* L.)
hidrofobizada para o desenvolvimento de sistemas de carregamento de fármacos / Mayrla
Rocha Lima Cardial. – 2019.

117 f. : il. color.

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

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

1. Goma de Cajueiro. 2. Acetilação. 3. Nanopartículas. 4. Anfotericina B. 5. Emulsões de
Pickering. I. Título.

CDD 540

MAYRLA ROCHA LIMA CARDIAL

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DE GOMA DE CAJUEIRO (*Anacardium occidentale L.*) HIDROFOBIZADA PARA O DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE CARREAMENTO DE FÁRMACOS

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

Aprovada em: 18 /12 /2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Prof^a. Dr^a. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Prof^a. Dr^a. Flávia Oliveira Monteiro da Silva Abreu
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Ao meu filho Gustavo Sander, todo meu
amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por possibilitar a realização deste sonho e me trazer força e perseverança para me manter firme no objetivo, por ter me feito ressurgir das cinzas e estar concluindo este doutoramento.

Ao meu filho Gustavo Sander por iluminar os meus caminhos e me fortalecer a cada dia com o seu sorriso. À minha filha (de coração) Mariana, por trazer tanto amor e felicidade, por ser essa menina maravilhosa e inteligente. Sou grata a vocês por sempre me inspirarem na busca da minha melhor versão. Amo vocês incondicionalmente, e por vocês estou concretizando este sonho.

Aos meus avós Francisca Araújo Rocha e Antônio Azevedo Rocha (*in memmorian*) pela educação cheia de valores que me passaram, por mesmo "lá de cima" me estimularem a ser forte, batalhadora e honesta. Sou convicta que vocês hoje estariam muito orgulhosos deste feito.

Às mulheres da minha vida: primeiramente à minha "pãe" Marlene, que me estimulou desde sempre a ter gosto pelo estudo, valorizar o conhecimento e me ensinou a ser uma mulher independente, cheia de sonhos e objetivos e que nunca deixou que nada me abatesse. Me ensinou a ser forte, aguerrida e ao mesmo tempo sonhadora. À minha irmã Marília, por ser minha melhor amiga, por sempre ser meu ombro amigo mesmo à distância, por acreditar em mim e compartilhar tantos sonhos comigo. Sem vocês NADA disso seria possível, muito obrigada por compreender minhas ausências e embarcarem comigo em mais essa "loucura" da vida acadêmica.

Ao meu esposo Alex Sander, pela calma e paciência inesgotáveis, pelo apoio. Por me estimular a buscar o melhor e não julgar minhas escolhas. Pelo amor que me fortalece.

Às minhas "keridas" Ana Rosa e Fernanda, por tantos cafés, desabafos (e até lágrimas), gráficos e gritos diante daquelas bancadas do LabPol. Vocês foram os presentes mais valiosos que esses anos me trouxeram. Não vou detalhar mais pois o choro não me permite.

Aos membros da Família Pig: Rudson, José (vulgo Onion Friend) e João Felipe. Vocês alegraram muitos dias turbulentos de experimentos, me ensinaram muitos dialetos, destilamos muito veneno e cretinice. Vocês foram incríveis na missão de me ajudarem não apenas com mão de obra mega

especializada, mas também em me ensinar a humildade de transmitir o que sei. Rudson (filhiiiiiiinho!), em especial, por ter sido minhas mãos e pernas durante 3 longos anos, pela paciência em trabalhar comigo, você sabe que em muitos momentos você era muito mais capacitado que eu na realização do trabalho experimental. Sou muito grata por ter contribuído na formação profissional de vocês e tenho muito orgulho do que meus "pigs" se tornaram.

A todos os colegas do LabPol que conviveram comigo ao longo desses anos, sou grata pela colaboração e paciência nas vidrarias roubadas (não quero esquecer de ninguém). À minha amiga Maslândia, por cada palavra de incentivo e cada momento de descontração, você sabe que tenho uma grande estima por você e és uma referência pessoal e profissional. À Aline Teixeira, por dividir muitos momentos comigo e me fazer dar tantas risadas diante do caos que era aquela bancada. À Natália, a primeira que tive contato, minha colega de turma, por me transmitir calma e paciência e por me ajudar inúmeras vezes com gráficos. Ao Fabrício pelo seu bom humor, conversas e desabafos, você tem um coração enorme. À Clara, por tantas conversas e lições de vida, pela alegria (mesmo com alguns coices, mas "tá" tranquilo), principalmente pesa presença tão forte nos últimos momentos e ajuda na escrita da tese, mesmo com tantos quilômetros nos separando. Aos demais, muito obrigada por cada momento que dividimos, me senti um "mero" bem encaixado naquela estrutura.

Às minhas amigas do DETAL que me acompanham "de outros carnavais, com outras fantasias": Luana Guabiraba que está comigo desde a graduação, juntas choramos muitas pitangas, obrigada por tudo amiga. Ana Cristina, você é uma "mal caráter" porém é pesquisadora incrível e além disso, um ser humano fantástico, obrigada pela sua amizade.

À CAPES e demais instituições de fomento (CNPq, FUNCAP), pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao Prof. Dr. Haroldo Cesar Beserra de Paula, pela oportunidade e orientação do trabalho.

À Profa. Flávia Abreu pela imensa colaboração ao trabalho após o exame de qualificação, pela parceria e sinergismo na produção científica, por me trazer uma visão mais ampla e acreditar no meu trabalho.

Aos professores participantes da banca examinadora Profa. Dra. Flávia Abreu, Profa. Dra. Judith Feitosa, Profa. Dra. Pablyana Cunha e Profa. Dra. Jeanny Maciel, pelo tempo disponibilizado e pelas valiosas colaborações.

Ao CENAUREM pela realização das análises de ressonância magnética nuclear.

No mais, muito obrigada!

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

“Um cientista em seu laboratório não é um mero técnico: ele também é uma criança que enfrenta fenômenos naturais que o impressionam como se fossem contos de fadas.”

Marie Curie

RESUMO

Neste trabalho produziu-se nanopartículas auto-organizadas e emulsões de *Pickering* para o carreamento de fármacos. Em uma primeira etapa investigou-se via planejamento fatorial as condições de reação para a produção de goma de cajueiro acetilada com diferentes graus de substituição. Posteriormente, investigou-se a formação de nanopartículas auto-organizadas a partir de diferentes derivados obtidos e a influência do grau de acetilação e da concentração de sal adicionada nas propriedades das emulsões de *Pickering*. Finalmente, produziu-se formulações de sistemas auto-organizados contendo anfotericina B (AmB) e emulsões de *Pickering* para incorporação de indometacina (IND). A análise estatística ANOVA e a regressão linear mostraram que os diferentes derivados tiveram que tanto o rendimento quanto o grau de acetilação influenciados pela temperatura e por um efeito de interação entre o tempo e quantidade de agente acetilante. A metodologia aplicada permitiu identificar boas condições reacionais, o que levou à produção de derivados acetilados com rendimento superior de até 97% e grau de acetilação 3. Os sistemas auto-organizados formados apresentaram tamanhos de partícula entre aproximadamente 160 e 340 nm. Os perfis de liberação de Anfotericina-B incorporados em nanopartículas derivadas, GCAA1-AmB destacou-se com 72% de eficiência de encapsulação e perfil de liberação prolongada, em até 72 h. As emulsões obtidas apresentaram tamanhos de gotículas na faixa de 269 a 312 nm, com distribuição de tamanho unimodal e valores de potencial zeta de -46 a - 48 mV. As eficiências de encapsulação estavam na faixa de 26 a 52%, um perfil de liberação constante atingido em 3 h, liberando o máximo de 75% IND. Diante do exposto, evidenciou-se que a modificação química proposta foi eficaz e apresentou resultados promissores no encapsulamento de princípios ativos hidrofóbicos por diferentes métodos.

Palavras-chave: Goma de Cajueiro. Acetilação. Nanopartículas. Anfotericina B. Emulsões de *Pickering*.

ABSTRACT

In this work we produced self-organized nanoparticles and Pickering emulsions for drug loading. In a first stage, the reaction conditions for the production of acetylated cashew gum with different degrees of substitution were inverted through factorial planning. Subsequently, we investigated the formation of self-organized nanoparticles from different derivatives obtained and the influence of the degree of acetylation and salt concentration added on the properties of the Pickering emulsions. Finally, formulations of self-organizing systems containing amphotericin B (AmB) and Pickering emulsions for incorporation of indomethacin (IND) were produced. Statistical analysis ANOVA and linear regression showed that the different derivatives had both the yield and the degree of acetylation influenced by the temperature and by an interaction effect between the time and quantity of acetylating agent. The applied methodology allowed to identify good reactional conditions, which led to the production of acetylated derivatives with superior yield of up to 97% and degree of acetylation 3. The self-organized systems formed had particle sizes between approximately 160 and 340 nm. Amphotericin-B release profiles incorporated into derivative nanoparticles, GCAA1-AmB stood out with 72% encapsulation efficiency and prolonged release profile, within 72 h. The obtained emulsions presented droplet sizes in the range of 269 to 312 nm, with a unimodal size distribution and zeta potential values of -46 to -48 mV. The encapsulation efficiencies were in the range of 26 to 52%, a constant release profile achieved in 3 h, releasing the maximum of 75% IND. In view of the above, it was shown that the proposed chemical modification was effective and presented promising results in the encapsulation of hydrophobic active principles by different methods.

Keywords: Cashew Gum. Acetylation. Nanoparticles. Amphotericin B. Pickering Emulsions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de reação para a acetilação em meio ácido.....	23
Figura 2 - Representação estrutural proposta para a goma de cajueiro.....	26
Figura 3 - Representação esquemática das emulsões clássicas.....	33
Figura 4 - Representação esquemática dos fenômenos de desestabilização de emulsões.....	34
Figura 5 - Comparação da emulsão clássica (O/A) e emulsão de Pickering.....	35
Figura 6 - Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	37
Figura 7 - Representação da estrutura química da AmB.....	38
Figura 8 - Representação da estrutura química da IND.....	41
Figura 9 - Fluxograma de atividades experimentais.....	45
Figura 10 - Curva de calibração de AmB em DMSO ($\lambda = 387 \text{ nm}$).....	52
Figura 11 - Curva de calibração de AmB em PBS 7,4 com lauril sulfato de sódio ($\lambda = 387 \text{ nm}$).....	53
Figura 12 - Curva de calibração de IND em etanol ($\lambda = 267 \text{ nm}$).....	56
Figura 13 - Curva de calibração de IND em PBS 7,4 com lauril sulfato de sódio ($\lambda = 267 \text{ nm}$).....	57
Figura 14 - Estudo do tamanho dos sistemas auto-organizados em função do grau de acetilação dos derivados de origem.....	63
Figura 15 - Espectros de FTIR da goma de cajueiro pura e seus respectivos derivados.....	66
Figura 16 - Espectros de RMN ^1H da goma de cajueiro pura e seus respectivos derivados.....	69
Figura 17 - Distribuição de tamanho para os sistemas auto-organizados por diálise.....	71

Figura 18 - Distribuição de tamanho para os sistemas auto-organizados por nanoprecipitação.....	73
Figura 19 - Perfil de liberação de AmB <i>in vitro</i>	78
Figura 20 - Representação esquemática das nanopartículas auto-organizadas de goma de cajueiro acetilada.....	80
Figura 21 - Efeitos da força iônica no tamanho de partícula das emulsões.....	83
Figura 22 - Efeitos da força iônica na variação percentual do tamanho de partícula das emulsões.....	85
Figura 23 - Efeitos da força iônica no potencial zeta das emulsões.....	86
Figura 24 - Efeitos da força iônica no índice de cremeação das emulsões.....	87
Figura 25 - Representação esquemática das emulsões de Pickering incorporadas com IND.....	89
Figura 26 - Distribuição de tamanho das emulsões originais e emulsões incorporadas com IND.....	91
Figura 27 - Perfil de liberação de IND <i>in vitro</i>	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Característica das principais gomas.....	21
Tabela 2 -	Polissacarídeos acetilados para encapsulamento de princípios ativos.....	24
Tabela 3 -	Aplicações da goma de cajueiro.....	27
Tabela 4 -	Emulsões de Pickering como sistemas de carregamento....	36
Tabela 5 -	Estudo estatístico das variáveis de acetilação nas respostas.....	47
Tabela 6 -	Estudo do processo de acetilação e suas respostas.....	59
Tabela 7 -	Análise de variância ANOVA (IC 92%): somas quadradas (SQ), médias quadradas (MQ), F_0 e $F_{\text{crítico}}$ para Rendimento e Grau de acetilação.....	59
Tabela 8 -	Razão entre as bandas $A_{C=O} / A_{C-H}$	67
Tabela 9 -	Estudo de tamanho das nanopartículas de goma de cajueiro acetilada.....	70
Tabela 10 -	Encapsulamento das nanopartículas para carregamento de AmB.....	76
Tabela 11 -	Influência da concentração de goma acetilada nas nanopartículas.....	80
Tabela 12 -	Estudo dos parâmetros de estabilidade das emulsões de Pickering.....	82
Tabela 13 -	Tamanho de partículas e potencial zeta das emulsões incorporadas com IND.....	90
Tabela 14 -	Tamanhos de partículas em diferentes sistemas de carregamento para IND.....	92
Tabela 15 -	Encapsulamento de IND via emulsão de Pickering.....	93
Tabela 16 -	Eficiências de encapsulamento em diferentes sistemas de carregamento para IND.....	94

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	Polissacarídeos.....	20
2.2	Acetilação de Polissacarídeos.....	22
2.3	Goma de Cajueiro.....	25
2.3.1	<i>Características e Propriedades.....</i>	25
2.3.2	<i>Viabilidade econômica.....</i>	28
2.4	Nanopartículas Para o transporte de princípios ativos.....	29
2.4.1	<i>Nanopartículas auto-organizadas.....</i>	30
2.4.1.1	<i>Nanopartículas auto-organizadas por diálise.....</i>	30
2.4.1.2	<i>Nanopartículas auto-organizadas por nanoprecipitação.....</i>	31
2.4.2	<i>Emulsões de Pickering.....</i>	32
2.5	Modelos de princípios ativos hidrofóbicos.....	37
2.5.1	<i>Anfotericina B (AmB).....</i>	38
2.5.2	<i>Indometacina (IND).....</i>	40
3	OBJETIVOS.....	43
3.1	Objetivo Geral.....	43
3.2	Objetivos Específicos.....	43
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1	Materiais.....	44
4.2	Metodologia.....	44
4.2.1	<i>Extração e isolamento da Goma de Cajueiro (GC).....</i>	45
4.2.2	<i>Acetilação da Goma de Cajueiro.....</i>	46
4.2.3	<i>Delineamento experimental e análise estatística para a modificação química da Goma de Cajueiro.....</i>	46
4.3	Caracterização dos Derivados Acetilados.....	48
4.3.1	<i>Determinação do Grau de Acetilação (GA).....</i>	48

4.3.2	<i>Determinação do Tamanho de Partículas.....</i>	49
4.3.3	<i>Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR).....</i>	50
4.3.4	<i>Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H).</i>	50
4.4	<i>Aplicação dos Derivados Acetilados: Sistemas Auto-Organizados Para a Incorporação de Anfotericina B (Amb)</i>	50
4.4.1	<i>Preparo das nanopartículas auto-organizadas com Amb..</i>	51
4.4.2	<i>Determinação da Eficiência de Encapsulamento e Dopagem.....</i>	51
4.4.3	<i>Estudo de liberação de AmB "in vitro".....</i>	52
4.5	<i>Aplicação dos Derivados Acetilados: Emulsões de Pickering Para o Carreamento de Indometacina (Ind).....</i>	53
4.5.1	<i>Elaboração das nanopartículas para estabilização das emulsões de Pickering - Fase Aquosa (FA).....</i>	54
4.5.2	<i>Preparo e estudo das emulsões de Pickering.....</i>	54
4.5.3	<i>Caracterização das Emulsões de Pickering.....</i>	55
4.5.4	<i>Aplicação das Emulsões de Pickering no carreamento de IND.....</i>	55
4.5.5	<i>Determinação da eficiência de encapsulamento (%EE) das emulsões de Pickering incorporadas com IND.....</i>	56
4.5.6	<i>Estudo de liberação de IND "in vitro".....</i>	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.1	Acetilação "Verde" da Goma de Cajueiro e Formação de Sistemas Auto-Organizados.....	58
5.1.1	<i>Estudo das condições reacionais.....</i>	58
5.1.1.1	<i>Influência das variáveis no rendimento reacional e no grau de acetilação dos produtos.....</i>	58
5.1.1.2	<i>Efeito do grau de acetilação no tamanho de partícula de sistemas auto-formados em diálise.....</i>	63

5.1.2	Caracterização dos derivados acetilados.....	65
5.1.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR).....	65
5.1.2.2	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^{1H}).....	69
5.1.2.3	Tamanho de partículas de sistemas auto-organizados.....	70
5.1.3	Conclusão parcial.....	74
5.2	Aplicação da Goma de Cajueiro Acetilada em Sistemas de Carreamento de Fármacos Hidrofóbicos.....	76
5.2.1	Sistemas auto-organizados para carreamento de AmB.....	76
5.2.1.1	Eficiência de encapsulamento.....	76
5.2.1.2	Perfil de liberação das nanopartículas incorporadas com AmB.....	77
5.2.2	Estudo das emulsões de Pickering para incorporação de indometacina.....	79
5.2.2.1	Estudo das nanopartículas auto-organizadas para estabilização das emulsões de Pickering.....	79
5.2.2.2	Estudo dos fatores de estabilização das emulsões de Pickering.....	82
5.2.2.2.1	Tamanho de partículas.....	82
5.2.2.2.2	Grau de Acetilação.....	84
5.2.2.2.3	Estabilidade de armazenamento.....	85
5.2.2.2.4	Potencial zeta.....	86
5.2.2.2.5	Índice de Cremeação (Creaming).....	87
5.2.3	Emulsões de Pickering para incorporação de Indometacina (IND).....	88
5.2.3.1	Distribuição de tamanho de partículas e potencial zeta.....	89
5.2.3.2	Eficiência de encapsulamento de IND nas emulsões de Pickering.....	93
5.2.3.3	Perfil de liberação das emulsões incorporadas com IND.....	95

5.2.4	<i>Conclusão parcial.....</i>	96
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
	REFERÊNCIAS.....	100

1 INTRODUÇÃO

Um dos problemas mais frequentemente encontrados na farmacologia é a baixa solubilidade em água e fluidos biológicos, baixa permeabilidade e biodisponibilidade e rápida degradação dos fármacos, fato que afeta em torno de 50% dos princípios ativos atualmente utilizados (FOX *et al.*, 2015; CAI *et al.*, 2010). Assim, é necessária a realização de estudos para desenvolver novos sistemas (nano) carreadores com a finalidade de melhorar as características de biodisponibilidade, toxicidade e aplicação terapêutica dos princípios ativos hidrofóbicos (CONSTANTIN *et al.*, 2017).

A nanoencapsulação é uma importante estratégia implementada nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, que permite a liberação controlada de princípios ativos. Esta técnica tem inúmeras vantagens para transporte direcionado e biodisponibilidade dos mesmos através das células (KATOUZIAN; JAFARI, 2016), além de possibilitar a modulação das propriedades desejadas para o sistema de carregamento a ser desenvolvido. Trata-se de um mecanismo de compartimentalização de substâncias em carreadores na faixa de 50 a 300 nm (DAUDT *et al.*, 2013), destacando-se a auto-organização utilizando biopolímeros hidrofobizados, dos quais estão disponíveis diversos estudos comprovando seu potencial em aplicações biomédicas e farmacêuticas.

Apesar de não ser uma técnica recente, a emulsão de *Pickering*, que teve sua elucidação em 1907, tem recebido grande destaque em publicações e patentes nos últimos anos (RAYNER *et al.*, 2014). Consiste na utilização de partículas como agentes estabilizantes de emulsão, apresentando o diferencial de serem mais estáveis que as emulsões convencionais diante dos fenômenos de floculação, coalescência e separação de fases, além de reduzir o uso de surfactantes que trazem toxicidade a formulações, restringindo a aplicação biológica de muitas composições (LAM *et al.*, 2014; CHEVALIER; BOLZINGER, 2013).

A aplicação das emulsões de *Pickering* na área farmacêutica ainda é muito limitada, fato que pode ser atribuído a maioria das partículas estudadas não serem biodegradáveis e biocompatíveis. Embora alguns materiais naturais como proteínas e polissacarídeos tenham sido utilizados na preparação de tais emulsões,

as partículas formadas são geralmente polidispersas, instáveis ou muito hidrofílicas para estabilizar as emulsões (NAN *et al.*, 2014), acarretando na necessidade de funcionalização destas biomoléculas para melhoria das propriedades de superfície.

Os polissacarídeos destacam-se como materiais excelentes para a produção de nanopartículas, especialmente às usadas para fins biomédicos. Isso se deve às suas propriedades, capacidade de modificação estrutural, biodegradabilidade e biocompatibilidade (SOSNIK; NEVES; SARMENTO, 2014).

A goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) é um polissacarídeo que apresenta características favoráveis, como seu razoável rendimento, viabilidade econômica e produtiva (CUNHA, DE PAULA; FEITOSA, 2009). Pesquisas apontam que trata-se de um biopolímero com vasta possibilidade de aplicações por possuir atividade antimicrobiana (CAMPOS *et al.*, 2012), propriedades emulsificantes, ser um potencial substituinte à goma arábica (PORTO; CRISTIANINI, 2014), baixa toxicidade, boa biocompatibilidade e potencial como para o desenvolvimento de novas matrizes de liberação de fármacos (RICHTER *et al.*, 2018; DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

A acetilação é um dos métodos utilizados na funcionalização de polissacarídeos. Atua aumentando a hidrofobicidade da cadeia, melhorando suas propriedades de superfície o que favorece a interação com princípios ativos hidrofóbicos, tornando o material bastante promissor no desenvolvimento de sistemas de carreamento eficazes. Neste aspecto, a goma de cajueiro acetilada já vem sendo estudada com esta finalidade apresentando resultados bastante significativos (SILVA *et al.*, 2018; DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015). Dias *et al.* (2016) e Pitombeira *et al.* (2015) obtiveram goma de cajueiro acetilada com substituição de aproximadamente 2,8.

Diante do exposto, a rota sintética adotada neste trabalho propiciou a obtenção de derivados acetilados com diversos padrões de substituição. Foram aplicados diferentes métodos de carreamento propostos (nanopartículas e emulsões de *Pickering*) para fármacos hidrofóbicos (anfotericina B e indometacina) usando como matriz a goma de cajueiro acetilada em diferentes graus de substituição. As formulações desenvolvidas para a incorporação dos princípios ativos foram estudadas com relação às características de eficiência de encapsulamento, perfil de liberação "*in vitro*" e propriedades coloidais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Polissacarídeos

O desenvolvimento e aplicação de novos materiais poliméricos tem recebido grande destaque na área da Ciência e Tecnologia de Polímeros. Sistemas poliméricos estudados pela mistura e/ou associação de polímeros distintos na forma de complexos polieletrólíticos (OUERGHEMMI *et al.*, 2016), misturas poliméricas (CHEN *et al.*, 2017), reações de enxertia em polissacarídeos (OYERVIDES-MUÑOZ *et al.*, 2017) e aplicações de polímeros modificados na formulação de nanopartículas (DIAS *et al.*, 2016) são algumas das tendências que se destacam nos últimos anos. A necessidade de concepção e exploração de materiais poliméricos deve-se devido à vasta possibilidade de estudos em diferentes áreas: farmacêutica (HEYDAR *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2013), alimentícia (ARYEE; NICKERSON, 2012), cosmética (PEGORARO *et al.*, 2017), agroquímica (HEMVICHIAN; CHANTHAWONG; SUWANMALA, 2014), entre outros.

Polímeros são macromoléculas de alta massa molar formadas pela ligação de unidades repetitivas menores (meros) ao longo da cadeia principal. As ligações entre os meros são covalentes, no entanto, entre cadeias podem existir interações do tipo ligações de hidrogênio ou de van der Waals e reticulação por meio de ligações covalentes (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Os biopolímeros são polímeros ou copolímeros obtidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis. A vantagem do uso dos mesmos é justificada por apresentarem biocompatibilidade e biodegradabilidade (LIU *et al.*, 2008), constituindo uma excelente opção para aplicações biológicas (HEATH; COOPER, 2013) e ainda apresentarem um ciclo de vida mais curto do que alguns materiais de origem sintética (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Polissacarídeos são polímeros naturais, os quais podem ser constituídos de um único ou de diferentes tipos de monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas. O termo “polissacarídeo” refere-se a estruturas compostas por mais de 20 unidades de monossacarídeos que podem se unir centena de vezes para compor esta macromolécula. Esses polímeros se fazem presentes em todos os organismos vivos exercendo funções como elementos estruturais de paredes celulares, material de reserva suprimindo o metabolismo energético, na matriz

extracelular fornecendo proteção e suporte para células e tecidos, entre outras (CUNHA *et al.*, 2009).

As gomas são polissacarídeos naturais bastante abundantes e como matérias-primas são dotadas de características sustentáveis, biodegradáveis e biocompatíveis (RANA *et al.*, 2011). Estas sofrem hidratação em água fria ou quente, formando dispersões coloidais, soluções altamente viscosas ou até mesmo géis. Podem ser obtidas de exsudatos, sementes, algas ou por fermentação microbológica. Os exsudatos são produzidos por várias espécies de plantas como resultado dos mecanismos de proteção contra lesões mecânicas ou microbianas (RANA *et al.*, 2011; CUNHA; DE PAULA; FEITOSA, 2009).

As gomas têm sido bastante estudadas, por possuírem grande variedade de composição e propriedades reológicas. Tais características as tornam materiais versáteis, resultando em ampla gama de aplicações que não são encontradas em outras classes de polímeros (RIBEIRO *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2012).

A Tabela 1 apresenta alguns tipos de gomas com estudos reportados na literatura, bem como as fontes de extração e tendências de aplicações para as mesmas.

Tabela 1 - Característica das principais gomas.

Nome	Fonte	Propriedades / Aplicação	Referência
Ágar	Algas da espécie <i>Gracilaria</i>	Formação de géis termorreversíveis	Lee <i>et al.</i> (2016).
Alginato	Algas pardas	Solubilidade em soluções alcalinas, formação de géis em Ca ²⁺ e Al ³⁺ e encapsulamento.	Borazjani <i>et al.</i> (2017). Mokhtari, Jafari e Assadpour (2017). Hernandez-Carmona e Hernandez- Garibay (2013).
Carragenana	Algas vermelhas (Rhodophyceae)	Capacidade de geleificação e suporte para aplicações de encapsulamento de fármacos e princípios ativos alimentícios	Shi <i>et al.</i> (2013). Manzoco <i>et al.</i> (2017).

Continuação.

Nome	Fonte	Propriedades / Aplicação	Referência
Goma Arábica	Exsudato de <i>Acacia senegal</i>	Utilizada em formulações farmacêuticas e alimentares orais tópicas como agente de suspensão e emulsificação	Patel e Goyal (2015). Shi <i>et al.</i> (2017).
Goma Guar	Sementes de <i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Aplicada como espessante e gelificante Carreador em formulações farmacêuticas	Ghosh <i>et al.</i> (2018). Dai <i>et al.</i> (2017).
Goma Karaya	Exsudato gomoso seco de caules e ramos de <i>Sterculia</i>	Espessante e estabilizante de emulsões, formação de géis. Carreamento de princípios ativos.	Alange, Birajdar e Kulkarni (2017).
Goma Xantana	Bactérias do gênero <i>Xanthomonas</i>	Espessante e estabilizante em diversos segmentos (indústria alimentícia, petroquímica e agroquímica). Propriedades reológicas estáveis em amplas faixas de pH e temperatura	Dolz <i>et al.</i> (2007). Luo e Wang (2014). Mutaliyeva <i>et al.</i> (2017).

Fonte: Autor

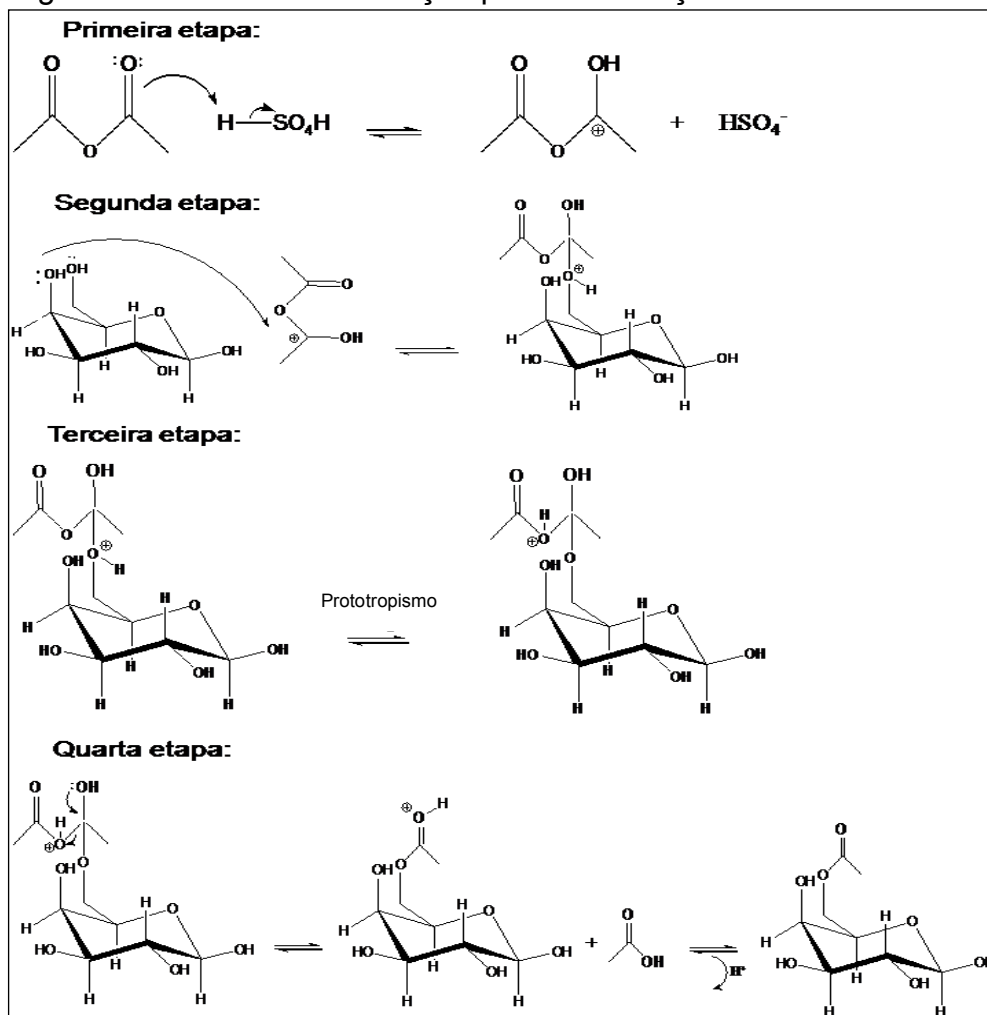
2.2 Acetilação de Polissacarídeos

A modificação da estrutura de polissacarídeos pode aumentar a funcionalidade e estender ainda mais a aplicabilidade dos biopolímeros. Vários tipos de modificações de polissacarídeos têm sido propostos via processos químicos, a remoção de ramificações ou sítios de hidratação, a introdução de substituintes hidrofóbicos e a formação de ligações cruzadas são exemplos clássicos de modificação química a que os polissacarídeos podem ser submetidos (CHEN *et al.*, 2014; GAMAL- ELDEEN *et al.*, 2007).

A acetilação consiste em uma reação que promove a substituição de sítios hidroxila por um grupo funcional acetila oriundo de um anidrido. Em polissacarídeos a reação se localiza nas hidroxilas livres presentes nas unidades monossacarídicas, conforme ilustrado na Figura 1. O mecanismo reacional segue as seguintes etapas: Descrição das etapas do mecanismo: 1ª: protonação do anidrido

acético; 2^a ataque ao eletrófilo; 3^a prototropismo do carbocátion gerado; 4^a liberação de ácido acético com posterior formação do derivado acetilado.

Figura 1 - Mecanismo de reação para a acetilação em meio ácido.



Fonte: Autor

A acetilação pode ter mecanismo catalisado por ácidos (PEREDO *et al.*, 2015), piridina (DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015; SONG *et al.*, 2013), formamida (ZHANG *et al.*, 2014) e bases fortes (CHEN *et al.*, 2014). Uma das desvantagens de algumas metodologias existentes é o uso de solventes orgânicos tóxicos, que geram sub-produtos indesejáveis, acarretando em um impacto ambiental negativo, e ainda, limitando a aplicação biológica dos derivados acetilados.

Este tipo de modificação pode resultar em vários efeitos sobre as suas propriedades funcionais originando polímeros hidrofobicamente modificados (LI *et al.*, 2016; XIE *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2014; SONG *et al.*, 2013; TERAMOTO;

SHIBATA, 2006). Diferentes métodos podem ser empregados, dependendo das características desejadas e finalidade de aplicação para o novo material. Li *et al.* (2016) estudaram os efeitos da acetilação nas propriedades emulsificantes de polissacarídeo de *Artemisia sphaerocephala*. Xie *et al.* (2015), Zhang *et al.* (2014) e Song *et al.* (2013) investigaram os efeitos do grau de acetilação na atividade antioxidante de polissacarídeos distintos. Teramoto e Shibata (2006) produziram acetato de pululana em diferentes graus de acetilação para a formação de géis em solventes orgânicos. Coloussi *et al.* (2015) estudaram as propriedades de géis de amido para a indústria de alimentos, Kemas *et al.* (2017) focaram seus estudos na influência da acetilação do amido em suas características reológicas.

Mais recentemente, têm-se estudado a acetilação de polissacarídeos visando a formação de nanopartículas em sistemas auto-organizados, gerada a partir de biopolímeros anfifílicos aplicáveis para o transporte de princípios ativos hidrofóbicos (XIAO *et al.*, 2016; NAJAFI; BAGHAIE; ASHORI, 2016; DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

No que se concerne às propriedades de encapsulamento de princípios ativos dos polímeros naturais acetilados, sistemas têm sido desenvolvidos para aplicações em diferentes áreas de estudo, conforme mostrado na Tabela 2:

Tabela 2 - Polissacarídeos acetilados para encapsulamento de princípios ativos.

Polímero utilizado	Princípio Ativo	Referências
Pululana	Gencitabina	Moon <i>et al.</i> (2011).
	Exenatida	Yang, Park e Na (2009).
Ácido hialurônico	Doxorrubicina	Park <i>et al.</i> (2010).
Inulina	Mesalamina	Walz <i>et al.</i> (2018).
	Dexpantenol	Walz, Hirt e Weber (2018).
Amido e derivados	Rifampicina	Ribeiro <i>et al.</i> (2017).
	Repanglinida	Okunlola, Adebayo e Adeyeye (2017).
	Ciprofloxacino	Najafi, Baghaie e Ashori (2016).

Continuação.

Polímero utilizado	Princípio Ativo	Referências
	Doxorrubicina	Xiao <i>et al.</i> (2016).
	Antocianinas	García-Tejeda, Salinas-Moreno e Martinez-Bustos (2015).

Fonte: Autor

A natureza anfifílica adquirida pelos polissacarídeos após a modificação hidrofóbica lhes dá a propriedade de se organizar em nanoestruturas funcionais em condições que favorecem a adesão celular e liberação de princípios ativos (FERREIRA *et al.*, 2010).

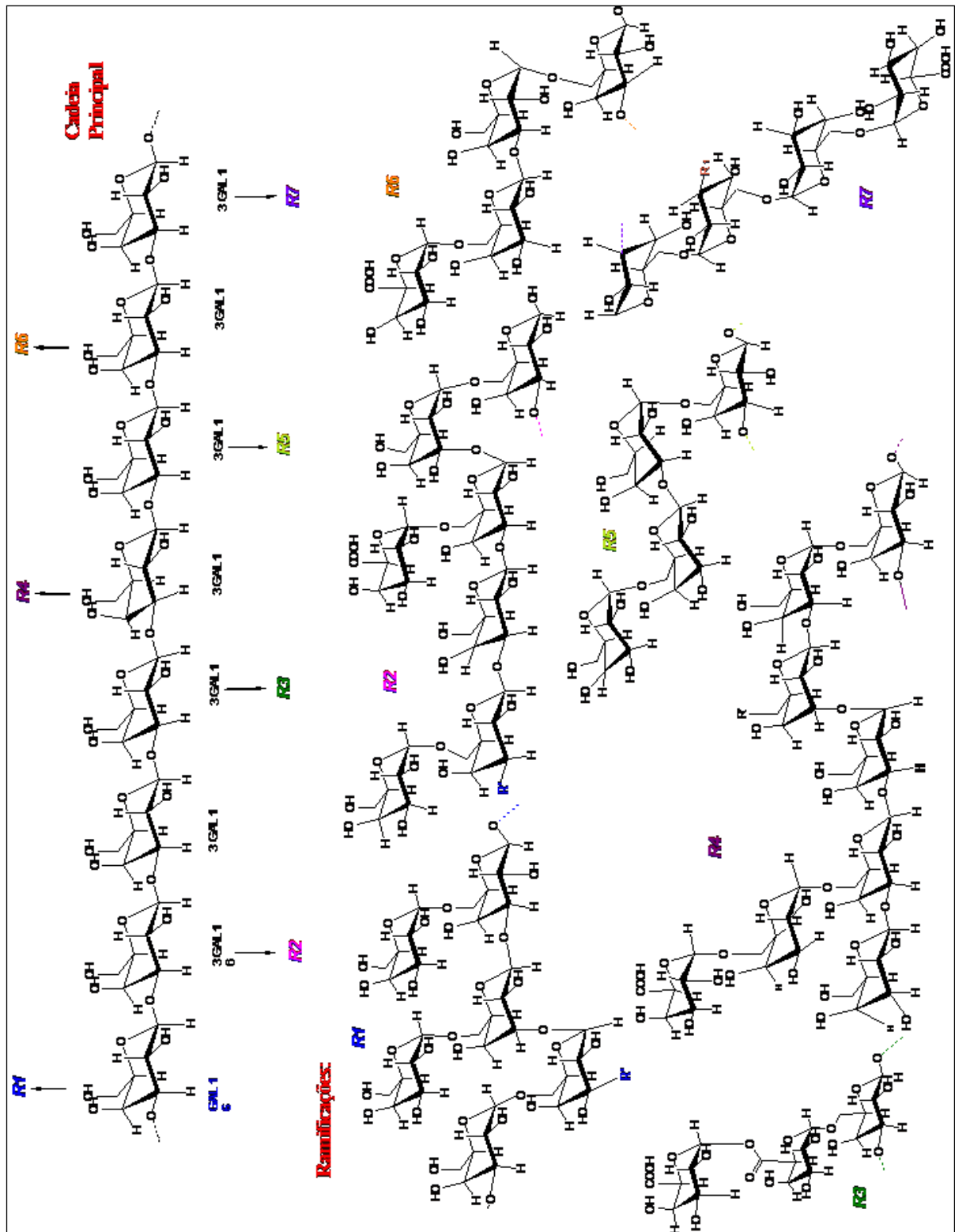
Dentro deste contexto a goma de cajueiro também vem sendo estudada com a finalidade de explorar o potencial de seus derivados acetilados como agentes carreadores de princípios ativos (DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

2.3 Goma de Cajueiro

2.3.1 Características e Propriedades

A goma de cajueiro (GC) é heteropolissacarídeo extraído do exsudato oriundo do caule do cajueiro, considerado um polissacarídeo ácido complexo composto de uma cadeia principal de β -galactose (1 $\rightarrow$ 3) com ramificações de β -galactose (1 $\rightarrow$ 6) (MOTHÈ; CORREIA, 2002). Seus principais constituintes são glicose, arabinose, ácido glucurônico, ramnose e sua composição percentual depende da origem, possuindo a composição aproximada de: galactose (70 a 73%), glicose (11 a 14%), arabinose (4 a 5%) de ácido glucurônico (4 a 7%) e ramnose (3 a 4%). A Figura 2 mostra a representação esquemática da estrutura química da goma de cajueiro (RODRIGUES; DE PAULA, 1995; COSTA; RODRIGUES; PAULA, 1996; DE PAULA; HEATLEY; BUDD, 1998; CUNHA *et al.*, 2007; PAULA; DE PAULA; FEITOSA, 2018).

Figura 2 - Representação estrutural proposta para a goma de cajueiro.



Fonte: Adaptado de Cunha *et al.* (2009).

Paula *et al.* (2011) citam que a goma de cajueiro tem recebido grande destaque, por possuir características químicas análogas às apresentadas pela goma arábica (massa molar, teor de ácido urônico, tipo de unidade monossacarídica, natureza polianiónica), além de ambas serem gomas exsudadas e possuírem cadeias ramificadas.

A aplicabilidade da goma de cajueiro é justificada pois a mesma é considerada um biopolímero de baixo custo, atóxico e biodegradável (DIAS *et al.*, 2016). Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos no âmbito de aplicar a goma de cajueiro como matéria-prima, bem como promover o aumento da sua funcionalidade através de processos de modificação química como: a acetilação (DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015), sulfatação (MOURA NETO *et al.*, 2011), carboximetilação (ABREU *et al.*, 2016; MACIEL *et al.*, 2005), reticulação (SILVA *et al.*, 2006), oxidação (CUNHA *et al.*, 2007), e a enxertia (RICHTER *et al.*, 2018; DA SILVA; DE PAULA; FEITOSA, 2007). A Tabela 3 mostra alguns dos diversos estudos reportando a utilização da GC em diferentes segmentos.

Tabela 3 - Aplicações da goma de cajueiro.

Aplicações	Referências
Encapsulamento de óleos essenciais	Abreu <i>et al.</i> (2012). Herculano <i>et al.</i> (2015).
Produção de filmes layer-by-layer	Leite <i>et al.</i> (2017). Araújo <i>et al.</i> (2012).
Encapsulamento de princípios ativos alimentícios hidrofóbicos	Botrel <i>et al.</i> (2017).
Atividade antimicrobiana	Quelemes <i>et al.</i> (2013). Campos <i>et al.</i> (2012).
Propriedades emulsificantes	Porto e Cristianini (2014).
Sistemas de detecção de Leishmaniose	Bittencourt <i>et al.</i> (2016).
Nanopartículas para o carregamento de fármacos	Lima <i>et al.</i> (2018). Abreu <i>et al.</i> (2016). Dias <i>et al.</i> (2016). Pitombeira <i>et al.</i> (2015).

Continuação.

Aplicações	Referências
Preparação de géis de uso tópico	Das <i>et al.</i> (2013).
Encapsulamento de larvicidas	Oliveira, Paula e De Paula (2014). Abreu <i>et al.</i> (2012).
Formulações em revestimentos alimentícios	Oliveira <i>et al.</i> (2018). Forato <i>et al.</i> (2015).
Elaboração de sistemas de emulsões para carreamento de fármacos hidrofóbicos	Richter <i>et al.</i> (2018).

Fonte: Autor.

2.3.2 Viabilidade econômica

O cajueiro *Anacardium occidentale* L. pertencente à família *Anacardiaceae*, este é amplamente cultivado em muitos países tropicais e subtropicais, disseminado em todo o território brasileiro. Entretanto, a sua importância socioeconômica e produção destaca-se na região nordeste, principalmente nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte com cerca de 600.000 ha de área plantada (MENESTRINA *et al.*, 1998; CUNHA; DE PAULA; FEITOSA, 2009).

O Brasil está entre os cinco maiores produtores de caju do mundo. Em 2016 apresentou 561 mil hectares de área colhida, perfazendo uma safra de rendimento médio de 195 kg/hectare. Dentro desse contexto o Ceará se destaca com 376 mil hectares de área colhida e rendimento médio de 82 kg/hectare, contando com uma participação de aproximadamente 60% da produção nacional (IBGE, 2016).

Logo, o agronegócio do caju é considerado como uma atividade econômica de grande relevância nos âmbitos nacional e estadual, justificando o amplo cultivo desta cultura, fato que torna primordial a aplicação dos co-produtos gerados pela mesma (PARENTE *et al.*, 1995).

2.4 Nanopartículas Para o Carreamento de Princípios Ativos

Nanopartículas são frequentemente definidas como partículas coloidais com tamanho na faixa entre 10 a 1000 nm (KREUTER, 1994). Na área de tecnologia farmacêutica vem sendo desenvolvidos diversos sistemas para a liberação controlada de medicamentos. A encapsulação de fármacos é uma estratégia adequada para lidar com as limitações das formas de dosagem convencionais, tais como solubilidade, biodisponibilidade, estabilidade, sabor e odor inadequados (RIVAS *et al.*, 2017).

Existem inúmeras definições diferentes para nanopartículas, no entanto, a comunidade científica ainda não apresenta consenso quanto a um conceito universal. As nanopartículas incluem os sistemas desenvolvidos com intuito de serem utilizados em ferramentas de diagnóstico e terapêutica, de escala nanométrica (KREUTER, 2007), bem como também como ferramenta para o transporte de princípios ativos hidrofóbicos em diferentes aspectos.

As nanopartículas poliméricas são os meios mais estudados para o carreamento de diversos princípios ativos, devido à sua excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de serem não tóxicas e não imunogênicas (VIEIRA; GAMARRA, 2015). Estes sistemas apresentam propriedades físico-químicas que permitem o desenvolvimento de pesquisas e aplicações no carreamento de princípios ativos hidrofóbicos principalmente nas áreas alimentícia (SHTAY *et al.*, 2019; LIANG *et al.*, 2017; HERCULANO *et al.*, 2015) e farmacêutica (ABREU *et al.*, 2016; XIAO *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2015).

No que se refere ao transporte de princípios ativos farmacêuticos estes sistemas nanoparticulados se destacam em comparação às formulações convencionais em função da capacidade de aumentar a solubilidade e biodisponibilidade, e modular a liberação de fármacos hidrofóbicos dispensando o uso de excipientes solubilizantes tóxicos (LUO *et al.*, 2012).

Dentre os tipos de nanopartículas destacam-se as auto-organizadas e as emulsões de Pickering.

2.4.1 Nanopartículas auto-organizadas

Os sistemas auto-organizados oferecem rotas para a obtenção de materiais altamente estruturados e a possibilidade de integrar e manipular características distintas em função de sua aplicabilidade (MENDES *et al.*, 2013).

Nanopartículas auto-organizadas podem ser de dois tipos: nanocápsulas e nanoesferas. As nanocápsulas são vesículas com estrutura auto-formada na qual a droga é confinada dentro de uma cavidade circundada por uma membrana polimérica. As nanoesferas são, no entanto, partículas nas quais o fármaco é dissolvido ou disperso na matriz polimérica (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; LETCHFORD; BURT, 2007).

A formação de nanopartículas em sistemas auto-organizados pode ocorrer a partir de biopolímeros anfifílicos. Neste tipo de sistema, cada componente individual interage através de forças intra e intermoleculares acarretando no arranjo espontâneo dos mesmos em estruturas definidas. Tais sistemas são úteis para o carregamento de princípios ativos hidrofóbicos (XIAO *et al.*, 2016; NAJAFI; BAGHAIE; ASHORI, 2016; DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015; MENDES *et al.*, 2013; OZIN *et al.*, 2009).

Diversos polissacarídeos derivatizados com propriedades anfifílicas vêm sendo estudados no intuito de formar sistemas auto-organizados como: ácido hialurônico acetilado (OSSIPOV, 2010), quitosana (YAO *et al.*, 2016; LARSON *et al.*, 2013), goma de cajueiro (DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015), amido (XIAO *et al.*, 2016; TAN *et al.*, 2009), alginato (ZHANG *et al.*, 2012), pululana (JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003) e dextrana (NAGAHAMA *et al.*, 2015).

2.4.1.1 Nanopartículas auto-organizadas por diálise

A diálise oferece um método simples e eficaz para a preparação de nanopartículas com distribuição de tamanho estreita (KOSTOG *et al.*, 2010; FESSI *et al.*, 1989). O polímero é dissolvido em um solvente orgânico e colocado dentro de um tubo de diálise com o peso molecular adequado. A diálise é realizada a partir da dissolução dos componentes em um solvente miscível contra um não-solvente imiscível com o primeiro solvente. O deslocamento do mesmo dentro da membrana ocorre por processo de osmose e é seguido pela agregação progressiva do polímero

devido a uma perda de solubilidade e à formação de suspensões homogêneas de nanopartículas.

Os sistemas auto-organizados em diálise tem sido amplamente estudados para o carregamento de diferentes princípios ativos como: indometacina (KALAM *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015), doxorrubicina (ABREU *et al.*, 2016; XIAO *et al.*, 2016), anfotericina B (VAN *et al.*, 2012), paclitaxel (HU *et al.*, 2018), curcumina (SAVAFI *et al.*, 2017), clonazepan (JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003), dentre outros.

2.4.1.2 Nanopartículas auto-organizadas por nanoprecipitação

A nanoprecipitação tem sido bastante estudada na pesquisa farmacêutica como alternativa limpa para novas formulações de medicamentos. Baseia-se no princípio de precipitação, que ocorre após a adição de um não-solvente a uma solução de polímero e ocorre em um mecanismo de quatro etapas: supersaturação, nucleação, crescimento por condensação e crescimento por coagulação que leva à formação de nanopartículas ou agregados de polímero. A nanoprecipitação pode ser utilizada para a encapsulação de compostos hidrofóbicos ou hidrofílicos, ressaltando-se que os parâmetros relacionados ao processo e à formulação na técnica de nanoprecipitação têm um efeito crítico sobre as características das nanopartículas (RIVAS *et al.*, 2017).

Neste aspecto, diversos trabalhos abordam a utilização de biopolímeros anfifílicos na elaboração de sistemas por nanoprecipitação como: goma de cajueiro (DIAS *et al.*, 2016), amido (NAJAFI; BAGHAIE; ASHORI, 2016; QIN *et al.*, 2016), gelatina (HAN *et al.*, 2013), quitosana (MARCANO *et al.*, 2018; TIAN *et al.*, 2017), pululana enxertada (CONSTANTIN *et al.*, 2017), dextrana (GAVORY *et al.*, 2011).

A literatura apresenta estudos bastante significativos acerca da nanoprecipitação para o carregamento de diferentes princípios ativos: ciprofloxacino (NAJAFI; BAGHAIE; ASHORI, 2016), indometacina (CONSTANTIN *et al.*, 2017), anfotericina B (MARCANO *et al.*, 2018), hidroxiamptotecina (WANG; TAN, 2016), epirrubicina (ZHANG *et al.*, 2016).

Ambos os métodos de elaboração de nanopartículas abordados visam o desenvolvimento de sistemas de carregamento eficazes para o carregamento de princípios ativos hidrofóbicos, com melhores características de solubilidade, biodisponibilidade e toxicidade reduzida (SINGH; PAI, 2010).

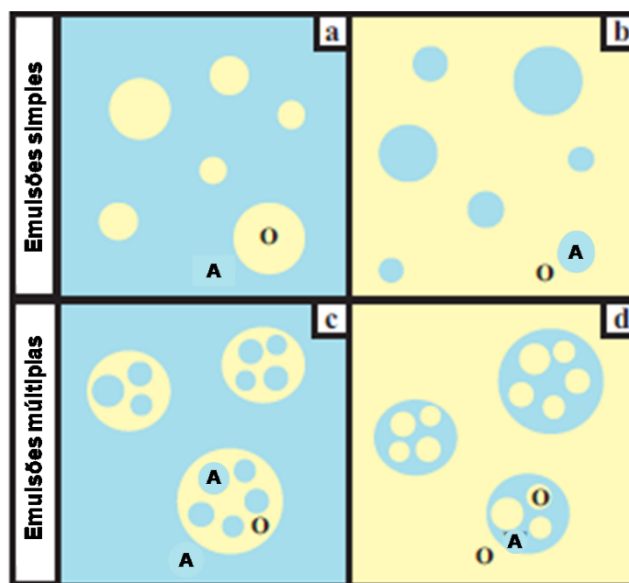
2.4.2 Emulsões de Pickering

Emulsões são definidas como um sistema heterogêneo de pelo menos dois líquidos imiscíveis sendo um chamado de fase contínua e o outro de fase dispersa. A fase dispersa (interna) encontra-se distribuída em forma de gotículas no seio da fase contínua (externa). De forma geral, o sistema é convencionalmente estabilizado pela presença de agentes ativos que possuem duas funções básicas: diminuir a tensão interfacial favorecendo a formação da emulsão, e evitar a coalescência da fase dispersa (SCHMITT; DESTRIATS; BACKOV, 2014).

Emulsões podem ser classificadas de acordo com a hidrofília ou lipofília de seu meio dispersante, em dois grupos: emulsões simples e emulsões múltiplas. As emulsões simples podem ser de óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O) (Figura 3). Emulsões múltiplas constituem um sistemas sistemas e polidispersos, podendo ser classificados em emulsões duplas do tipo óleo-em-água-em-óleo (O/A/O) ou água-em-óleo-em-água (A/O/A) (Figura 3). Neste último, por exemplo, a emulsão é composta de gotículas aquosas, que são dispersas dentro de gotas oleosas, sendo estas próprias gotas oleosas dispersas em uma fase aquosa externa (BOUYER *et al.*, 2012; GROSSIORD; SELLIER, 2001).

A Figura 3 apresenta os tipos de emulsões simples e múltiplas, onde: (a) emulsão simples de fase oleosa dispersa em água; (b) emulsão simples de fase aquosa dispersa em óleo; (c) sistema aquoso em envoltório oleoso disperso em água; (d) sistema de fase oleosa em envoltório aquoso disperso em óleo.

Figura 3 - Representação esquemática das emulsões clássicas.



Fonte: Adaptado de Bouyer *et al.* (2012).

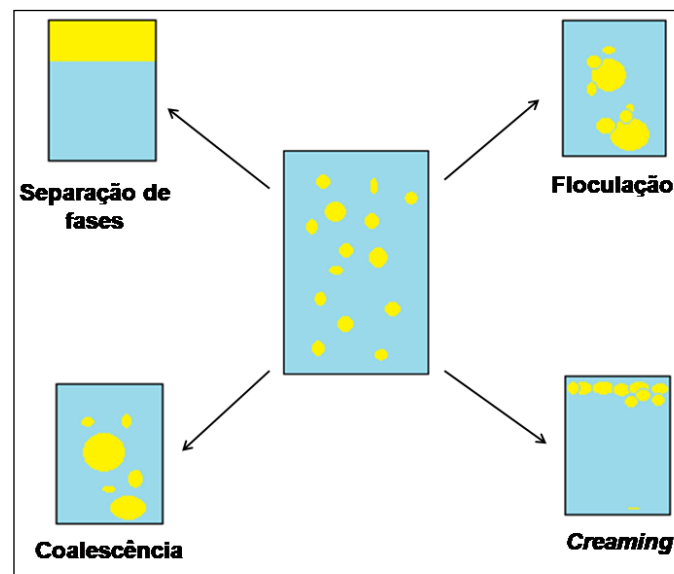
As emulsões também podem ser classificadas de acordo com o tamanho das suas gotículas em três categorias: macroemulsões, microemulsões e nanoemulsões. As macroemulsões são sistemas cineticamente estáveis, com aparência opaca que apresentam gotículas de tamanho entre 250 e 100.000 nm (MCCLEMMENTS, 2009; HOAR; SCHULMAN, 1940). As microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis, com aparência transparente e tamanho de gotículas de 1 a 100 nm. As nanoemulsões consistem em uma dispersão muito fina, composta por uma fase de óleo (tal como triglicerídeos ou hidrocarbonetos) e uma fase aquosa (água, ou soluções aquosas de eletrólitos ou polióis), que se apresenta como gotas com diâmetro menor que 100 nm (SONNEVILLE-AUBRUN *et al.*, 2004).

Durante a emulsificação, a área interfacial entre as fases contínua e dispersa é consideravelmente aumentada, aumentando a energia livre interfacial. Assim as emulsões tendem a separar-se rapidamente para minimizar a área de contato interfacial e a energia livre. Esta instabilidade manifesta-se por vários mecanismos: floculação, coalescência, cremação (*creaming*) ou sedimentação e maturação de Ostwald (BOUYER *et al.*, 2012). Os principais fenômenos de desestabilização das emulsões estão representados na Figura 4.

Os principais mecanismos de desestabilização observados são a floculação e a coalescência (WALSTRA, 1987). A floculação é o resultado de forças atraentes entre as gotículas e leva à formação de flocos de fase dispersa

(BLIJDENSTEIN *et al*, 2004). A floculação de depleção surge quando a concentração de biopolímero excede um valor crítico. De fato, a presença de biopolímero não adsorvente ou em excesso na fase contínua aumenta a força atrativa entre as gotículas pelo efeito osmótico e provoca a exclusão das cadeias de biopolímero da estreita região que circunda duas gotículas (MCCLEMENTS, 2000). Este mecanismo de esgotamento não é específico para biopolímeros, na verdade, ele também pode ser induzido por um pequeno surfactante não adsorvido.

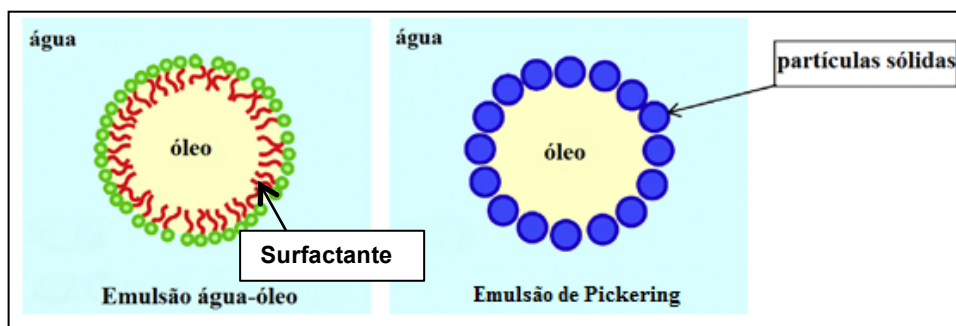
Figura 4 - Representação esquemática dos fenômenos de desestabilização de emulsões.



Fonte: Autor.

Com a finalidade de reduzir a instabilidade dos sistemas emulsionados foram desenvolvidas as emulsões de Pickering. Emulsões de Pickering são emulsões estabilizadas com partículas anfífilas sólidas em substituição a surfactantes (Figura 4). A Figura 5 apresenta as emulsões de Pickering, onde as partículas sólidas (finamente divididas) são adsorvidas na superfície da gotícula, estabilizando o sistema como um todo.

Figura 5 - Comparação da emulsão clássica (O/A) e emulsão de Pickering.



Fonte: Adaptado de Chevalier e Bolzinger (2013).

A estabilidade destas emulsões ocorre a partir de fenômenos de adsorção irreversível das partículas coloidais na interface entre fluidos não miscíveis, isto em função da dupla molhabilidade das partículas utilizadas (BINKS; LUMSDON, 2001; AVEYARD; BINKS; CLINT, 2003; CHEVALIER; BOLZINGER, 2013; RAYNER *et al.*, 2014).

A alta estabilidade deste tipo de emulsões é resultante da barreira energética necessária para remover as partículas da interface, a fim de facilitar a união da gotícula. Em comparação à sistemas de emulsões convencionais as emulsões de Pickering possuem diversas vantagens, tais como: alta estabilidade, baixa toxicidade, baixa contaminação ao meio ambiente, além de alta resistência a fenômenos de desestabilização (XIAO *et al.*, 2016; CHEVALIER; BOLZINGER, 2013; BON *et al.*, 2007).

McClemments (2005) sugere que a estabilização das gotículas da fase dispersa por partículas sólidas é dada por uma combinação de efeitos estéricos, interações eletrostáticas e mecanismos de hidratação. No entanto, outros fatores como a natureza das partículas utilizadas, força iônica, pH, temperatura e tempo de estocagem interferem na estabilização desses sistemas e muitos estudos corroboram neste aspecto (LAM *et al.*, 2014; RAYNER *et al.*, 2014; SHAO *et al.*, 2018; FENG; LEE, 2016; ZHU *et al.*, 2018). É importante ressaltar que o caráter naturalmente hidrofílico de alguns biopolímeros pode acarretar em uma cobertura ineficaz da superfície da gotícula de emulsão, resultando na instabilidade do sistema. Havendo, assim, a necessidade da utilização de surfactantes para estabilização por efeito sinérgico ou a funcionalização do polímero aplicado (GAO *et al.*, 2014).

São observadas na literatura estudos sobre a elaboração de emulsões de Pickering que diversos tipos de partículas têm sido empregadas para seus mecanismos de estabilização, destacando-se os biopolímeros em sua forma nativa e/ou modificada: amido nativo (LU *et al.*, 2018; GE *et al.*, 2017; MARTO *et al.*, 2015) e hidrofobizado (CHIVERO *et al.*, 2016; SONG *et al.*, 2015), celulose (LU *et al.*, 2018; LU *et al.*, 2017; GONG *et al.*, 2017; HU *et al.*, 2015) e modificada (MIKULCOVÀ *et al.*, 2018), quitosana e associações (MWANGI *et al.*, 2016; SHI *et al.*, 2016; SHAH *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2015), proteínas (ZHU *et al.*, 2018; HU *et al.*, 2016; DESTRIATS *et al.*, 2014), goma arábica e associações (LI *et al.*, 2018; DAI *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2016), alginato (YANG *et al.*, 2017).

No tocante ao uso desta tecnologia para o encapsulamento de princípios ativos, embora ainda haja uma certa limitação nesta parte, existem na literatura alguns estudos. A Tabela 4 reúne algumas pesquisas publicadas com tendências de aplicação das emulsões de Pickering para o carreamento de princípios ativos.

Tabela 4 - Emulsões de Pickering como sistemas de carreamento.

Área de Aplicação	Polímero utilizado	Princípio Ativo	Referências
Alimentícia	Celulose	Óleo essencial de orégano D-Limoneno	Zhou <i>et al.</i> (2018). Wen <i>et al.</i> (2014).
	Amido	Polifenóis	Shao <i>et al.</i> (2018).
	Zeína / Goma Arábica	Tocoferóis Timol	Li <i>et al.</i> (2018). Lu e Xiao (2018).
	Proteína extraída de ervilha	B-Caroteno	Shao e Tang (2016).
	Quitosana	Curcumina	Shah <i>et al.</i> (2016).
Farmacêutica	Goma de Cajueiro	Anfotericina B	Richter <i>et al.</i> (2018).
	Quitosana	Hisperidina	Dammak e Sobral (2018).
	Ciclodextrina	Buvicaína	Hu <i>et al.</i> (2018).
	Silibina ^a	Silibina	Yi <i>et al.</i> (2017).
	Blocos PLA-PEG	Retinol	Laredj-Bourezg <i>et al.</i> (2017).

^a As nanopartículas para estabilização desta emulsão eram compostas pelo próprio fármaco.

2.5 Modelos de Princípios Ativos Hidrofóbicos

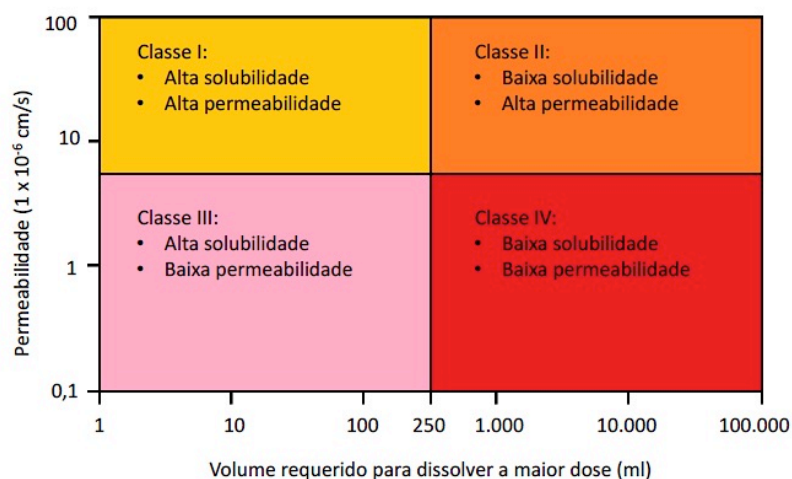
Atualmente, em torno de 50% das formulações farmacológicas disponíveis no mercado apresentam restrição em suas aplicações terapêuticas devido a problemas relacionados a características dos princípios ativos e/ou formulação (CONSTANTIN *et al.*, 2017; FOX *et al.*, 2015).

Independente da via de administração a absorção de um fármaco é fundamentalmente dependente da solubilidade aquosa do mesmo e da permeabilidade em fluidos e mucosas biológicas. Estes são fatores determinantes da biodisponibilidade e, conseqüentemente, da eficácia clínica de um medicamento.

De acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010) o termo biodisponibilidade compreende a velocidade de extensão da absorção de um princípio ativo a partir de uma determinada forma farmacêutica para a obtenção do efeito farmacológico pretendido.

Em 1995, Amidon e colaboradores propuseram o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), que permitiu a classificação dos fármacos com base nos parâmetros de solubilidade e permeabilidade. Quando combinado com a dissolução do medicamento, o SCB leva em consideração três fatores importantes que afetam a velocidade e extensão da absorção de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata: dissolução, solubilidade e permeabilidade gastrointestinal (AMIDON *et al.*, 1995). Os critérios de classificação dos fármacos estão apresentados na Figura 6.

Figura 6 - Sistema de Classificação Biofarmacêutica.



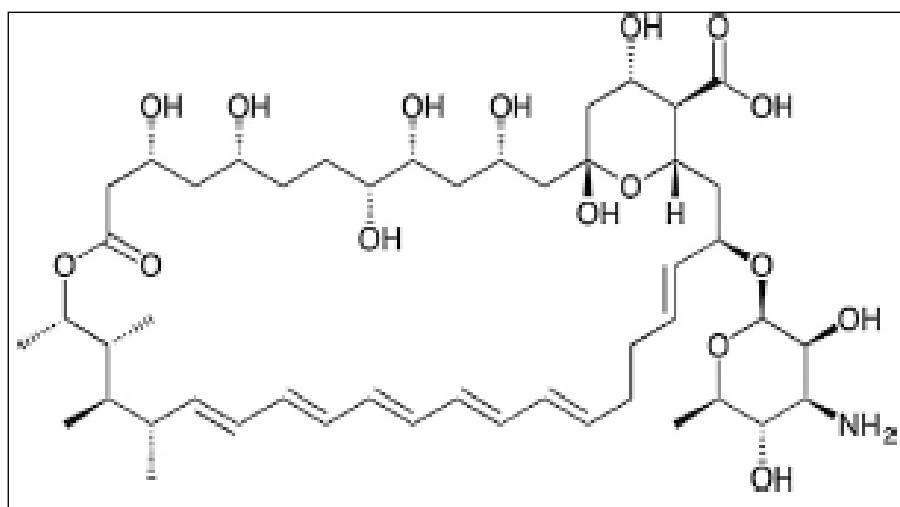
Fonte: Pouton *et al.* (2006); Amidon *et al.* (1995).

Nesta parte da revisão bibliográfica serão abordados os aspectos de características e propriedades químicas dos fármacos de baixa solubilidade em água bem como apresentar alguns estudos sobre os sistemas de carregamento relatados na literatura. Neste trabalho foram adotados a anfotericina B e a indometacina como modelos de fármacos hidrofóbicos, aqui denominados como AmB e IND, respectivamente.

2.5.1 Anfotericina B (AmB)

A anfotericina B (AmB) é macrociclo heptaênico com ligações duplas conjugadas na posição *trans* e 3-amino-3,6 dideoximanosa (micosamina) unida ao anel principal por uma ligação glicosídica. A estrutura química deste fármaco está representada na Figura 7.

Figura 7 - Representação da estrutura química da AmB.



Fonte: Richter *et al.* (2018).

A AmB pertence à Classe IV (baixa solubilidade, baixa permeabilidade) do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BSC) e ao B do sistema ABG (AMIDON *et al.*, 1995; FAGERHOLM, 2010; MACHERAS; KARALIS, 2014). Este fármaco exibe uma atividade antifúngica e fungistática de amplo espectro e consiste numa opção terapêutica crucial para o tratamento de micoses sistêmicas graves, dependendo dos níveis séricos alcançados (HALPERIN *et al.*, 2016), ressaltando-se sua importância no tratamento da leishmaniose visceral. É uma droga lipofílica que

atua através da ligação com o esterol da membrana fúngica produzindo uma mudança na sua permeabilidade, possibilitando o extravasamento dos componentes intracelulares (DE KRUIJFF *et al.*, 1974).

Segundo Casa *et al.* (2015) os efeitos terapêuticos da AmB são prejudicados por sua toxicidade para tecidos normais, que induzem vários efeitos colaterais, incluindo toxicidade relacionada à infusão e toxicidades crônicas, como nefrotoxicidade, cardiotoxicidade, hepatotoxicidade, leucopenia e trombocitopenia. A toxicidade da AmB está associada à formação de agregados insolúveis devido à sua natureza anfifílica.

Diante dos problemas associados à toxicidade e solubilidade reduzida da AmB, diferentes formulações comerciais para este fármaco, incluindo sistemas lipossomais, complexos de sulfato de colesterol e complexos lipídicos. Tais formulações foram desenvolvidas com o objetivo de melhorar a tolerabilidade do fármaco no paciente, sua toxicidade e alterar o perfil farmacocinético do princípio ativo em relação à sua forma livre (MOEN *et al.*, 2009; HAMILL *et al.*, 2013). As formulações de AmB atualmente disponíveis para aplicações clínicas incluem Fungizone® e formulações lipídicas consistindo em AmBisome®, Amphotec™, Abelcet® (LANIADO-LABORIN; CABRALES-VARGAS, 2009).

Hamill (2013) ressalta que as formas farmacêuticas da AmB (lipossomal e desoxicolato) apresentam perfis farmacocinético e farmacodinâmico diferentes, no entanto, possuem o mesmo espectro de atividade, porém com diferentes regimes de doses e diferentes perfis de toxicidade.

Neste contexto diversas pesquisas têm sido realizadas visando o desenvolvimento de formulações alternativas baseadas em sistemas lipídicos ou poliméricos, para reduzir os efeitos colaterais das composições de AmB atualmente disponíveis.

Wang *et al.* (2016) desenvolveram uma suspensão micelar de AmB com policarbonato funcionalizado e obtiveram liberação de aproximadamente 50% do fármaco em 24 h, atividade fúngica comparável a do Fungizone®.

Richter *et al.* (2018) estudaram a associação de AmB via emulsão de Pickering usando goma de cajueiro enxertada como matriz e obtiveram eficiências de 21 a 47% do fármaco incorporado;

Pippa *et al.* (2014) formularam micelas poliméricas de AmB usando copolímero de blocos de poli (isopreno-óxido de etileno) anfifílico e observaram que

a estabilidade coloidal foi sugestiva da eficácia das nanoestruturas propostas como carreadores para AmB, e obtiveram em uma das suas formulações liberação de aproximadamente 95% de AmB em 8 h.

Sheikh *et al.* (2010) desenvolveram sistema nanossomal e em ensaios biológicos obtiveram que a matriz proposta ocasionou em menor lise dos glóbulos vermelhos quando comparada à forma de desoxilato de anfotericina e valores análogos ao Ambisome®. Os testes clínicos em animais não apresentaram toxicidade nem mortalidade atribuídos ao tratamento.

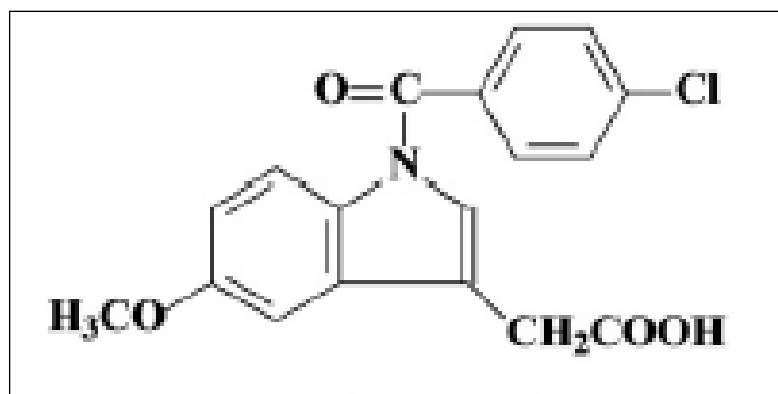
Marcano *et al.* (2018) sintetizaram nanopartículas de AmB em policaprolactona revestidas com quitosana. Os resultados obtidos sugerem que o sistema coloidal foi estável após o preparo e estocagem. Apresentou encapsulamento razoável (69%) e baixa citotoxicidade comparada ao fármaco na sua forma livre.

2.5.2 Indometacina (IND)

A indometacina (Ácido 2-{1-[(4-clorofenil)carbonil]-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il}acético) é anti-inflamatório pertencente à classe dos não esteróides (AINE's) comumente aplicado no alívio de sintomas relacionados a processos inflamatórios como distúrbios reumáticos, enxaquecas, dores pós-traumáticas e pós-cirúrgicas (ROELOFS *et al.*, 2008; PANCHAGNULA; THOMAS, 2000).

Classificado no grupo II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (baixa solubilidade e alta permeabilidade), a IND (Figura 8) é fracamente solúvel em água e nos fluidos aquosos e a sua absorção é limitada pela sua velocidade de dissolução e solubilidade. Portanto, otimizar as propriedades de solubilidade ou dissolução pode melhorar significativamente a sua biodisponibilidade (POUTON, 2006; LENNERNAS; ABRAHAMSSON, 2010).

Figura 8 - Representação da estrutura química da IND



Fonte: Kuskov *et al.* (2017).

O mecanismo de ação da IND está associado à presença de efeitos colaterais gastrointestinais e renais atribuídos à inibição das enzimas ciclooxigenases, responsáveis pela produção de prostaglandinas que atuam na proteção gástrica, circulação sanguínea renal e agregação plaquetária (BATEMAN, 1994; BATEMAN, 2012; KIM; FLACH; JAMPOL, 2010; SOSTRES *et al.*, 2010). A IND, tal como a maioria dos NSAIDs, causa ou intensifica as úlceras gastrointestinais ou o sangramento e possui uma meia-vida curta, de 4 a 5 h (ZILTENER; LEAL; FOURNIER, 2010). De fato, para diminuir os efeitos colaterais deste fármaco, é possível reduzir a dose administrada e fornecer a entrega do medicamento alvo para a área de interesse (ZÁVIŠOVÁ *et al.*, 2007).

Com a finalidade de melhorar a solubilidade e biodisponibilidade de IND no organismo e reduzir os efeitos colaterais da administração do mesmo, diversos meios de carregamento vem sendo desenvolvidos. Khayat *et al.* (2018) elaboraram um sistema de microemulsão com eugenol para liberação transdérmica. A carga de indometacina na microemulsão foi aumentada pelo aumento da concentração de eugenol e na presença de co-surfactantes. A taxa de liberação aumentou na presença de propilenoglicol ou etanol. O fluxo transdérmico de indometacina foi maior a partir de microemulsões contendo alta concentração de eugenol, e apresentou efeito sinérgico ao utilizar o propilenoglicol no meio.

Badri *et al.* (2017) elaboraram nanopartículas à base de policaprolactona contendo indometacina (uso tópico) para proporcionar efeito analgésico e antiinflamatório tópico no tratamento sintomático de doenças inflamatórias, reduzindo os efeitos colaterais e a frequência de administração. Obtiveram sistemas

com aproximadamente 70% de IND incorporada, boa estabilidade coloidal após o preparo e estoque (30 dias), capazes de penetrar na camada córnea da pele.

Akhgari *et al.* (2017) desenvolveram nanofibras poliméricas a base de Eudragit® para absorção do fármaco no cólon. Os ensaios de liberação sugerem que as formulações testadas foram resistentes ao pH 1,2 (gástrico) e tiveram aproximadamente 100% do princípio ativo liberado em pH 7,4.

Lu *et al.* (2017) obtiveram nanopartículas auto-organizadas para carreamento de IND utilizando copolímeros em bloco com núcleo de polietilenoimina ramificada (PEI) e múltiplas cadeias periféricas de poli (ε-benziloxycarbonil-L-lisina). Os ensaios de liberação mostraram perfil de aproximadamente 80% do fármaco liberado em 2 h (liberação rápida). Os testes de citotoxicidade evidenciaram que a matriz proposta foi biocompatível.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar a síntese e produtos da acetilação "verde" em meio ácido da goma de cajueiro (exsudato de *Anacardium occidentale* L.) através de delineamento experimental fatorial 2^3 (sem réplicas), bem como caracterizar os produtos reacionais obtidos, e, potencializar a aplicação tecnológica dos mesmos na elaboração de sistemas carreadores de fármacos hidrofóbicos.

3.2 Objetivos Específicos

- Estudar a reação de acetilação em meio ácido através de delineamento experimental do tipo fatorial 2^3 em dois níveis sem réplicas, e, verificando a influência dos parâmetros reacionais no rendimento e grau de acetilação dos derivados;
- Averiguar a influência do grau de substituição dos derivados na formação e características coloidais das nanopartículas auto-organizadas por diálise e nanoprecipitação e por emulsões de *Pickering*;
- Incorporar anfotericina B em nanopartículas auto-organizados via diálise e estudar a influência do grau de acetilação dos derivados precursores nas características de encapsulamento e liberação (pH 7,4) do princípio ativo;
- Elaborar matrizes de emulsões de *Pickering* com a goma de cajueiro acetilada (média e alta substituição) e estudar os fatores que atuam na estabilização de tais sistemas, como: concentração polissacarídica na composição da fase aquosa, força iônica da fase aquosa na composição da emulsão e grau de acetilação dos derivados utilizados;
- Incorporar indometacina nas emulsões sem ajuste de força iônica e pH = 6,8 e analisar a estabilidade coloidal dos sistemas (parâmetros de tamanho de partículas, potencial zeta e índice de polidispersividade), as características de encapsulamento e perfil de liberação das formulações obtidas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

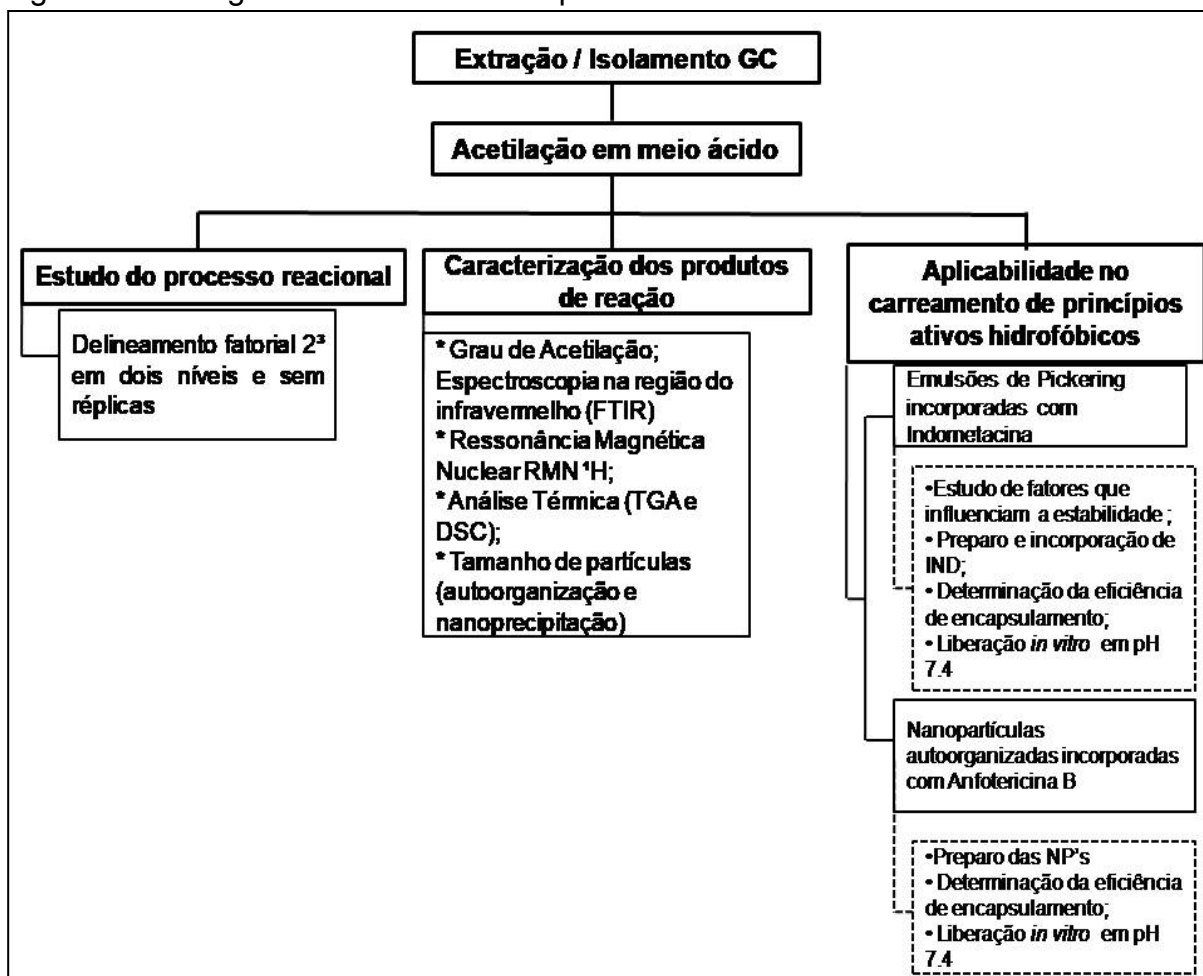
4.1 Materiais

A goma de cajueiro foi isolada do exsudato de arvores de *Anacardium occidentale* L. nativas do estado do Ceará (Brasil) conforme metodologia descrita por Rodrigues, de Paula e Costa (1993). Álcool etílico 95%, ácido acético glacial e anidrido acético (Synth), ácido sulfúrico padrão analítico (Vetec), hidróxido de sódio (Vetec), cloreto de sódio (Synth), dimetilsulfóxido (Synth), brometo de sódio (Synth), DSS (2,2-dimetilsilapentano-5-sulfonato de sódio) e dimetilsulfóxido deuterado (Cambridge Isotope Laboratories Inc.), Anfotericina B (Ethicall), Indometacina (Sigma Aldrich), miglyol 812® (triglicérides e ácidos caprílico e capróico) obtidos da Cremer Oil (Witten, Alemanha), Acetona (Synth).

4.2 Metodologia

A descrição sucinta das atividades experimentais realizadas ao decorrer deste trabalho envolvem as seguintes etapas: (a) extração e isolamento da goma de cajueiro; (b) reação de acetilação em meio ácido; (c) caracterização dos produtos de reação; (d) delineamento experimental fatorial para estudo da influência das variáveis reacionais no grau de substituição da goma de cajueiro; (e) aplicação dos derivados acetilados em sistemas de carregamento de fármacos por auto-organização e emulsões do tipo Pickering. A Figura 9 ilustra as etapas experimentais deste trabalho.

Figura 9 - Fluxograma de atividades experimentais.



Fonte: Autor.

4.2.1 Extração e isolamento da Goma de Cajueiro (GC)

A extração da goma de cajueiro foi realizada conforme método descrito por Rodrigues, de Paula e Costa (1993). Inicialmente, foi preparada uma solução aquosa do exsudato triturado a 10% (m/v) e deixado em agitação durante 12 horas. Em seguida, foi feito ajuste de pH da solução para 7,0 com NaOH 0,1 mol.L⁻¹, com posterior adição de 1 g de NaCl e precipitação em etanol (80% em volume). O precipitado obtido foi filtrado em funil de placa sinterizada, lavado com etanol e acetona e seco com jato de ar quente.

4.2.2 Acetilação da Goma de Cajueiro

A goma de cajueiro foi acetilada seguindo método descrito por Feuer (1998), localizado na patente americana nº 5.710.269 com modificações. Resumidamente, uma mistura de goma de cajueiro e da mistura acetilante (GC:Ac 1:0,16 e 1:0,08), composta de anidrido acético e ácido acético (razão 1,5:1,0) foi colocada sob agitação magnética (600 rpm, 15 minutos); adicionou-se em seguida 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado com o sistema sob refrigeração. Posteriormente, a mistura reacional foi mantida sob aquecimento e agitação magnética na temperatura e tempo determinados no delineamento fatorial. A reação foi interrompida pela adição de 20 mL de água destilada a 5° C. O sistema reacional foi deixado em repouso refrigerado durante 15 minutos, neutralizado até pH 7 com hidróxido de sódio a 25% e novamente deixado em repouso refrigerado (15 minutos). Em seguida, produto final foi precipitado em solução de etanol a 80%, deixado em repouso *"overnight"*. Para a recuperação dos derivados acetilados são prosseguidas as etapas de separação, diálise contra água destilada (3 dias) e liofilização (Liofilizador modelo FreeZone 4.5, Labconco).

4.2.3 Delineamento experimental e análise estatística para a modificação química da Goma de Cajueiro

Neste estudo foi aplicado um delineamento experimental em dois níveis do tipo fatorial 2³ sem replicas, com a finalidade de avaliar o processo de acetilação catalisado em ácido sulfúrico. As variáveis independentes estudadas foram a temperatura (T), tempo de reação (t) e razão quantitativa goma de cajueiro: mistura acetilante (Ac). As variáveis dependentes (respostas) foram rendimento reacional e o grau de acetilação dos derivados acetilados.

Foram executados 8 experimentos para cada variável dependente, conforme o delineamento experimental ANOVA. Estes foram agrupados em blocos de 4, experimentos selecionados aleatoriamente para minimizar os efeitos oriundos de fatores de variações inerentes ao processo. Duas reações foram realizadas para a extrapolação dos níveis utilizados foi realizada a fim de evidenciar com mais clareza o efeito das variáveis dependentes nas respostas estudadas, totalizando 10 experimentos. As variáveis independentes utilizadas para fins de avaliação do

processo foram: rendimento reacional, grau de acetilação e tamanho de partículas de sistemas auto-organizados obtidos por diálise. A matriz de planejamento contendo as variáveis dependentes A, B e C, consta na Tabela 5.

Tabela 5 - Estudo estatístico das variáveis de acetilação nas respostas.

Número de Reação	Derivados Acetilados	Variáveis dependentes ^a		
		A <i>T</i> (°C)	B <i>t</i> (h)	C <i>AC</i>
1	T50t2Ac08	-1	-1	-1
2	T80t2Ac08	+1	-1	-1
3	T50t6Ac08	-1	+1	-1
4	T80t6Ac08	+1	+1	-1
5	T50t2Ac16	-1	-1	+1
6	T80t2Ac16	+1	-1	+1
7	T50t6Ac16	-1	+1	+1
8	T80t6Ac16	+1	+1	+1
9*	T90t4Ac12	+1,68	0	0
10*	T65t4Ac18	0	0	+1,68

^a *T* = Temperatura; *t* = tempo; *q* = razão goma:mistura acetilante; níveis de estudo: baixo (-1), médio (0), alto (+1) e extrapolados (+1.68). * Condições experimentais de extrapolação.

Fonte: Autor.

Os níveis trabalhados em cada variável dependente estão descritos a seguir:

- *Fator A*: Temperatura (*T*); nível alto (+) = 80° C (T80), nível baixo (-) = 50° C (T50) e nível extrapolado (+1,68) = 90° C (T90);
- *Fator B*: Tempo (*t*); nível alto (+) = 6,00 h (t6) e nível baixo (-) = 2,00 h (t2). Nível médio (0) = 4,00 h (t4);
- *Fator C*: Teor de acetilante (*Ac*); nível alto (+) = 0,16 (Ac16) e nível baixo (-) = 0,08 (Ac08). Nível médio (0) = 0,12 (Ac12) e nível extrapolado (1,68) = 0,19 (Ac19).

O tratamento estatístico dos dados foi realizado através de análise ANOVA no programa Excel (Microsoft 2010). Aplicou-se o teste F usando nível de significância 92%. A regressão linear tenta modelar a relação entre as variáveis ajustando uma equação linear aos dados observados e foi usada para indicar os

parâmetros de reação significativos. O tratamento dos dados estatísticos foi realizado por meio do Programa Excel (Ribeiro, Fogliatto e Caten, 2001) e todas as variáveis independentes estudadas e suas possíveis combinações foram normalizadas para os valores -1, 0 +1 e +1,68, para valores baixos, médio, alto e extrapolado, respectivamente, e depois agrupados em uma matriz. Seu coeficiente e o fator de significância (p) foram determinados por regressão linear. As variáveis independentes significativas foram selecionadas, considerando o fator de significância (p) menor que 0,08 para uma confiabilidade de 92%.

4.3 Caracterização dos Derivados Acetilados

Para a caracterização utilizando técnicas de análise instrumental foram utilizadas as seguintes amostras: Goma de cajueiro isolada (GCI), T50t2Ac08 (baixa acetilação), T80t2Ac16 (média acetilação), e T65t4Ac18 (alta acetilação). Nos parâmetros inerentes ao grau de acetilação e tamanho de partícula dos sistemas obtidos por autoorganização foram utilizados todos os derivados acetilados. Na determinação de tamanho de partículas dos sistemas nanoprecipitados foram selecionados os produtos de reação T50t2Ac08, T80t2Ac16 e T65t4Ac18.

4.3.1 Determinação do Grau de Acetilação (GA)

O grau de acetilação consiste em quantificar a substituição dos grupamentos acetila na estrutura polissacarídica. Este parâmetro foi quantificado para cada ponto proposto no delineamento experimental em conformidade com o método volumétrico descrito na norma ASTM D871-72 (American Society for Testing and Materials) reportada em outros artigos da literatura (XU *et al.*, 2010; ELOMAA *et al.*, 2004). A metodologia aplicada é baseada na completa hidrólise básica das ligações éster dos derivados acetilados e titulação do excesso alcalino com ácido (ELOMAA *et al.*, 2004).

Após secas durante 2 h em estufa a 105 °C, cada amostra foi esfriada em dessecador à temperatura ambiente, pesada e transferida para um frasco de vidro, no qual foi adicionado álcool etílico a 75%, na proporção de 50 mL de álcool para cada 1 g de amostra. Em seguida foram adicionados 40 mL de hidróxido de sódio 0,5 mol.L⁻¹ e o sistema foi aquecido a 50 °C. O recipiente foi vedado e mantido por

aproximadamente 3 dias em temperatura ambiente, com agitações ocasionais. Decorrido esse período, o sistema foi titulado com ácido clorídrico 0,5 mol.L⁻¹ utilizando-se fenolftaleína como indicador, logo o excesso de NaOH presente que foi utilizado na quantificação dos grupamentos acetila (titulação de retorno).

A determinação do teor de acetato foi feita em duplicata através da Equação 1, e o grau de acetilação (GA) é dado pela Equação 2:

$$\%Acetato = \frac{(V_{BRANCO} - V_{AMOSTRA}) \times M_{HCl} \times 0,043 \times 100}{m_{AMOSTRA}} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$GA = \frac{181 \times (\%Acetato)}{4300 \times [42 \times (\%Acetato)]} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

V_{BRANCO} = Volume de ácido utilizado na titulação do branco;

V_{AMOSTRA} = Volume de ácido utilizado na titulação da amostra;

M_{HCl} = Concentração da solução de ácido clorídrico (mol.L⁻¹);

m_{AMOSTRA} = massa de amostra utilizada.

4.3.2 Determinação do Tamanho de Partículas

- *Nanopartículas auto-organizadas obtidas por diálise*: As partículas auto-organizadas foram obtidas pela micelização de cada produto de reação em meio aquoso, em duplicata, conforme metodologia descrita por Pitombeira *et al.* (2015). Para tal, 5 mg de cada amostra foi dissolvida em 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e a solução foi dialisada em membrana de acetato de celulose (massa molar de corte 14 kD) contra água destilada. O fim da diálise foi determinado quando a condutância da água externa se tornou igual à da água destilada (após 3 dias). Em seguida as amostras foram filtradas e analisadas (50 µL de amostra + 1 mL de água deionizada);
- *Nanopartículas obtidas por nanoprecipitação*: Os derivados acetilados (T50t2Ac08, T80t2Ac16, e T65t4Ac18) foram individualmente dissolvidos em dimetilsulfóxido na concentração de 5 mg.mL⁻¹. Alíquotas desta solução mãe

foram retiradas e gotejadas em água deionizada sob agitação (aproximadamente 500 rpm) para compor soluções polissacarídicas na concentração de $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectivamente. As nanopartículas obtidas por método de nanoprecipitação. Em seguida as amostras foram filtradas e analisadas (50 μL de amostra + 1 mL de água deionizada);

A determinação do tamanho de partícula e suas referidas distribuições, e análise de potencial zeta (ζ) foram realizadas em um analisador Malvern Zetasizer Nano ZS Modelo 3600. O diâmetro hidrodinâmico foi medido por dispersão de luz dinâmica (DLS) com laser a um comprimento de onda de 633 nm e um ângulo de dispersão fixo de 173° , em que cada replicata foi medida três vezes.

4.3.3 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

A goma de cajueiro pura e seus respectivos derivados acetilados foram analisadas pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho. Para tal as amostras foram preparadas em pastilhas de KBr e em seguida os espectros foram obtidos na região entre 4000 e 400 cm^{-1} em espectrofotômetro Shimadzu modelo 8300.

4.3.4 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H)

Para as análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H), as amostras foram dissolvidas em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-D) e os espectros foram obtidos em equipamento Bruker modelo Advance DRX500, com controle de temperatura, a 70°C e utilizando o 2,2-dimetilsilapentano-5-sulfonato de sódio (DSS) como padrão em deslocamento químico de 0 ppm.

4.4 Aplicação dos Derivados Acetilados: Sistemas Auto-Organizados Para a Incorporação de Anfotericina B (Amb)

Para esta etapa do estudo, dois derivados acetilados de diferentes graus de substituição foram selecionados: T80t2Ac16 (Acetilação Média, $\text{GA} = 1,80 \pm 0,10$) e T90t4Ac12 (Alta Acetilação, $\text{GA} = 2,72 \pm 0,36$), que a partir deste tópico são

designados como GCMA (média acetilação) e GCAA1 (alta acetilação), respectivamente. Esta análise compreende o preparo das nanopartículas com AmB, determinação da eficiência de encapsulamento das matrizes propostas e estudo do perfil de liberação *in vitro* em tampão fosfato simulando meio intestinal simulado (pH = 7,4).

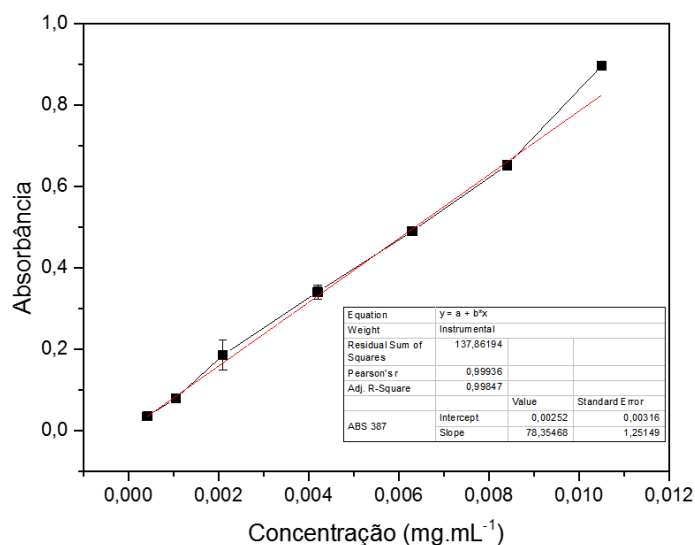
4.4.1 Preparo das nanopartículas auto-organizadas com AmB

As nanopartículas para carreamento de AmB foram obtidas, em duplicata, conforme metodologia descrita por Pitombeira *et al.* (2015). Cada derivado (GCMA ou GCAA1, 50 mg) e AmB (5 mg) foi dissolvido em 5 mL de dimetilsulfóxido, os respectivos sistemas foram dialisados contra água (massa molar de exclusão 14 kD), filtrados e depois secos por liofilização. As amostras de nanopartículas de AmB foram denominadas GCMA-AmB (Nanopartículas Derivadas de Acetilação Média) e GCAA1-AmB (Nanopartículas Derivadas de Alta Acetilação).

4.4.2 Determinação da Eficiência de Encapsulamento e Dopagem

O teor de AmB na nanopartícula foi medido dissolvendo 5 mg de nanopartículas de AmB em DMSO (10 mL). agitando-se durante 1 h. O conteúdo de AmB foi determinado por absorção UV-Vis a 387 nm (espectrômetro Shimadzu UV 1800) e calculado usando uma curva de calibração de AmB em DMSO, apresentada na Figura 10, para determinar a relação entre a absorbância e a concentração ($ABS = 78,35x + 0,002$; $R^2 = 0,9964$).

Figura 10 - Curva de calibração de AmB em DMSO ($\lambda = 387$ nm).



A eficiência de encapsulação (% EE) e a carga de fármaco (DL%) foram calculadas de acordo com as equações 3 e 4 (PARK *et al.*, 2010):

$$EE(\%) = \frac{m_{AmB}}{m_{AmB-AD}} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

$$DL(\%) = \frac{m_{AmB}}{m_{AmB-NP}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde:

m_{AmB} = massa de AmB incorporada

m_{AmB-NP} = massa total do sistema (nanopartículas + conteúdo de AmB)

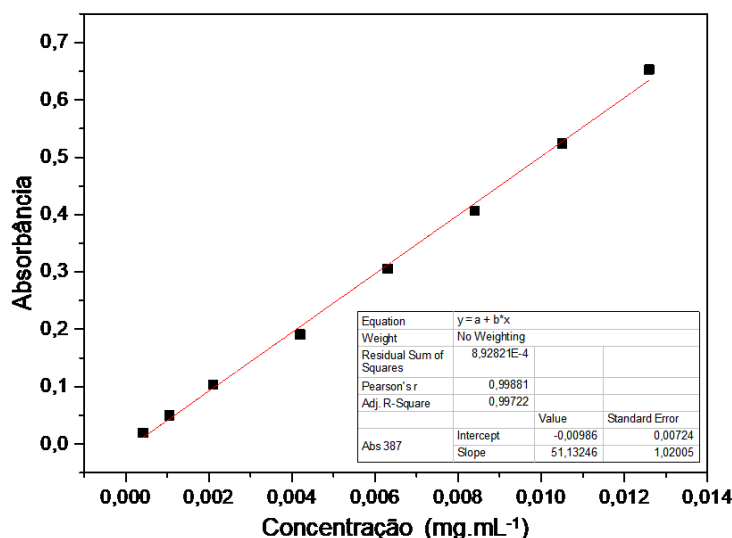
m_{AmB-AD} = massa total de AmB adicionada.

4.4.3 Estudo de liberação de AmB "in vitro"

Os perfis de liberação das nanopartículas carregadas com o fármaco proposto (GCMA-AmB ou GCAA₁-AmB) foram obtidos utilizando um sistema de diálise. Cada amostra (20 mg) foi introduzida em membranas de acetato de celulose (poro 14 kD) e dialisada contra 30 mL de solução tampão fosfato contendo lauril sulfato de sódio a 0,15%, a pH 7,4 e 37 °C por 72 h. Alíquotas foram tomadas em

determinados intervalos de tempo e analisadas por espectrofotometria na região UV-Vis. As medidas de absorvância a $\lambda = 387$ nm foram convertidas em porcentagem de liberação de AmB, de acordo com uma curva de calibração previamente estabelecida ($ABS = 51,13x - 0,009$; $R^2 = 0,9972$), apresentada na Figura 11.

Figura 11 - Curva de calibração de AmB em PBS 7,4 com lauril sulfato de sódio ($\lambda = 387$ nm).



4.5 Aplicação dos Derivados Acetilados: Emulsões de Pickering Para o Carreamento de Indometacina (Ind)

Dois derivados acetilados de diferentes graus de substituição foram selecionados: T80t2Ac16 (Acetilação Média, $GA = 1,80 \pm 0,10$) e T65t4Ac18 (Alta Acetilação, $GA = 3,06 \pm 0,21$), que a partir deste tópico são designados como GCMA e GCAA2, respectivamente.

O estudo da elaboração das emulsões de Pickering como matriz de carreamento de princípio ativo hidrofóbico compreende as seguintes fases do estudo: Estudo dos fatores que atuam na estabilização das emulsões de Pickering (grau de acetilação do derivado precursor da emulsão, força iônica da fase aquosa), Caracterização das emulsões de Pickering, Elaboração das emulsões de Pickering incorporadas com IND, estudo da eficiência de encapsulamento das matrizes propostas, e estudo do perfil de liberação *in vitro* em meio sanguíneo simulado (pH = 7,4).

4.5.1 Elaboração das nanopartículas para estabilização das emulsões de Pickering - Fase Aquosa (FA)

Os derivados acetilados (GCMA e GCAA2) foram individualmente dissolvidos em dimetilsulfóxido na concentração de 5 mg.mL^{-1} . Alíquotas desta solução mãe foram retiradas e gotejadas em água deionizada sob agitação (aproximadamente 500 rpm) para compor soluções polissacarídicas na concentração de $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectivamente. As nanopartículas obtidas por método de nanoprecipitação foram utilizadas na constituição da fase aquosa das emulsões elaboradas neste estudo.

4.5.2 Preparo e estudo das emulsões de Pickering

O preparo das emulsões foi executado segundo adaptações ao método de Calvo, Vila Jato e Alonso (1997). Inicialmente as fases da emulsão foram formuladas separadamente. As nanopartículas para composição da fase aquosa (FA) foram obtidas conforme descrito no tópico 4.5.1 e submetidas à agitação magnética (aproximadamente 500 rpm). As fases orgânicas (FO) foram formadas com a seguinte composição: 63 μL de miglyol, 250 μL de etanol e 4,5 mL de acetona; em seguida o sistema foi submetido à agitação. Após o preparo da fase orgânica, esta foi gotejada moderadamente sobre a fase aquosa em agitação magnética contínua (500 rpm), formando uma dispersão turva de coloração leitosa. Em seguida o sistema foi rotaevaporado a 45°C até metade do volume inicial com a finalidade de remover os solventes presentes (acetona e etanol).

Foram realizados estudos acerca de fatores que interferem nas propriedades das emulsões: 1) Influência do grau de substituição (DA) da goma de cajueiro acetilada: foram utilizados dois derivados em diferentes padrões de acetilação - GCMA e GCAA2, média e alta acetilação, respectivamente; 2) Influência da Força Iônica: para análise desta variação as fases aquosas (dos dois derivados em ambas as concentrações) sofreram adição de NaCl nas concentrações 0, 50, 100, 150 e 300 mmol.L^{-1} de NaCl (MWANGI *et al.*, 2016).

4.5.3 Caracterização das Emulsões de Pickering

As propriedades consideradas ao estudo das emulsões elaboradas foram: tamanho de partículas das emulsões e sua variação 7 dias após armazenamento, potencial zeta, e índice de cremação (CI).

Para o tamanho de partículas, cada emulsão teve uma alíquota de 50 µL diluída para um volume final de 1 mL, e foram analisadas conforme descrito no tópico 3.3.2.

A estabilidade da emulsão foi determinada pelo estudo da variação de diâmetro médio para as gotículas de emulsão após 7 dias de armazenamento.

O índice de cremação (CI) foi determinado medindo a altura do soro (H_s) e a altura total (H_T) de uma emulsão 7 dias após o preparo da amostra (MWANGI *et al.*, 2016).

$$CI = \frac{H_s}{H_T} \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

4.5.4 Aplicação das Emulsões de Pickering no carreamento de IND

Nesta etapa as nanopartículas formadas pelos derivados acetilados GCMA (média acetilação) e GCAA2 (alta acetilação) foram utilizados na elaboração de emulsões de Pickering aplicadas ao carreamento de indometacina (IND).

O preparo das emulsões foi feito de acordo com o método de Calvo, Vila Jato e Alonso (1997) e suas referidas adaptações. As fases aquosas (FA) foram preparadas via nanoprecipitação na concentração de 0,5 mg.mL⁻¹. As fases orgânicas (FO) seguiram a formulação: 63 µL de miglyol, 250 µL de solução etanólica de IND e 4,5 mL de acetona. Foram preparadas emulsões com diferentes concentrações de fármaco, perfazendo as razões polissacarídeo: fármaco (1:1 e 1:1,5). As emulsões formuladas com IND foram intituladas GCMA-IND1:1, GCMA-IND1:1.5, GCAA2-IND1:1 e GCAA2-IND1:1,5. Ao final da síntese as emulsões foram centrifugadas a 25000 g⁻¹ e 15 °C durante 1 h (Sigma, modelo 3-30K). As emulsões isoladas obtidas (sobrenadante) foram utilizados nas análises posteriores.

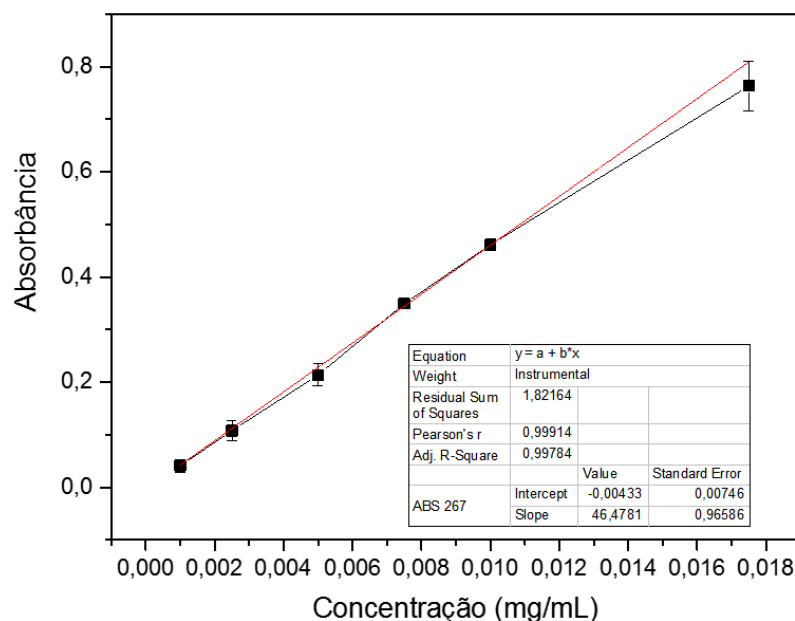
As emulsões incorporadas com IND (na razão 1:1) em sua forma isolada, sem ajuste de força iônica e pH 6,8. Estas foram caracterizadas no que se referem

ao tamanho de partículas, índice de polidispersividade, potencial zeta (ζ), eficiência de encapsulamento e perfil de liberação da IND.

4.5.5 Determinação da eficiência de encapsulamento (%EE) das emulsões de Pickering incorporadas com IND

A quantidade de IND de encapsulada foi medida. Para tal o conteúdo total de emulsão isolada obtido em uma síntese foi dissolvido em etanol (80%) e agitado em vórtex e centrifugado (40000 g^{-1} , 15°C , 30 min). O conteúdo de IND foi determinado por absorção de UV-Vis a 267 nm (espectrômetro Shimadzu UV 1800) e foi calculado usando uma curva de calibração IND, para determinar a relação entre a absorbância e a concentração ($\text{ABS} = 46,48 - 0,0043$; $R^2 = 0,9991$), a curva utilizada está apresentada na Figura 12:

Figura 12 - Curva de calibração de IND em etanol ($\lambda = 267\text{ nm}$).



A eficiência de encapsulamento (% EE) foi calculada de acordo com a Equação 6 (PARK *et al.*, 2010):

$$EE(\%) = \frac{m_{\text{IND-EM}}}{m_{\text{IND-AD}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde:

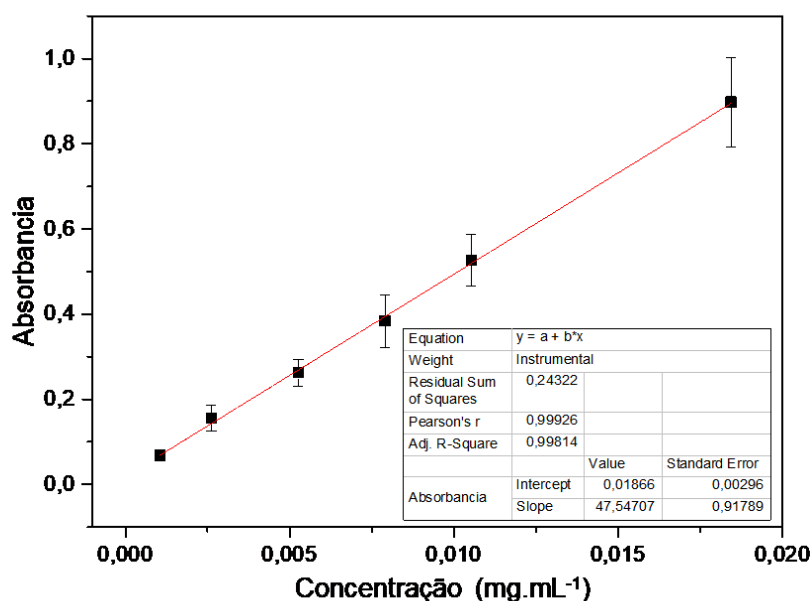
$m_{\text{IND-EM}}$ = massa de IND incorporada na emulsão isolada

$m_{\text{IND-AD}}$ = massa adicionada de IND

4.5.6 Estudo de liberação de IND "in vitro"

Os perfis de liberação das emulsões incorporadas com IND (GCMA-IND1:1 e GCAA2-IND1:1) foram obtidos usando um sistema de diálise. Cada amostra de emulsão previamente preparada e isolada (pellet) foi introduzida em membrana de acetato de celulose com poros de exclusão molecular de 14 kD e dialisada contra 30 mL de solução tampão de fosfato adicionada de sulfato de lauril de sódio 0,15% (PBS), pH 7,4 a 37 °C durante 48 h. Foram tomadas alíquotas em determinados intervalos de tempo e analisadas por espectrofotometria na região UV-Vis (espectrômetro Shimadzu UV 1800). As medidas da absorbância a 267 nm foram convertidas na porcentagem de fármaco liberada de acordo com uma curva de calibração (Figura 13) previamente estabelecida para a qual a linearidade foi confirmada ($\text{ABS} = 45,5470x + 0,0187$; $R^2 = 0,9981$).

Figura 13 - Curva de calibração de IND em PBS 7,4 com lauril sulfato de sódio ($\lambda = 267 \text{ nm}$).



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Acetilação "Verde" da Goma de Cajueiro e Formação de Sistemas Auto-Organizados

5.1.1 *Estudo das condições reacionais*

No presente estudo foi realizada a reação de acetilação da goma do cajueiro catalisada em ácido sulfúrico usando diferentes condições reacionais a fim de verificar a sua influência nas propriedades nos derivados funcionalizados. Com o objetivo de modular estas propriedades de acordo com as condições reacionais, os fatores foram variados através de um delineamento fatorial do tipo 2^3 (sem réplicas), onde os efeitos no rendimento da reação, no grau de acetilação e no tamanho de partícula dos sistemas auto-organizados (por diálise) gerados foram observados. Os sistemas auto-organizados formados por diálise foram comparados no que se refere ao tamanho de partícula, índice de polidispersividade e potencial zeta.

5.1.1.1 *Influência das variáveis no rendimento reacional e no grau de acetilação dos produtos*

Avaliou-se a influência dos fatores temperatura, tempo e quantidade de reagente acetilante no rendimento, grau de acetilação e tamanho de partícula. As variáveis dependentes e independentes constam na Tabela 6. Os resultados indicam uma variação considerável no rendimento da reação, com valores entre 55 e 97% e com grau de acetilação entre aproximadamente 0,2 e 3.

Tabela 6 - Estudo do processo de acetilação e suas respostas.

Número de Reação	Derivados Acetilados	Variáveis dependentes ^a			Derivados Acetilados		
		A	B	C	Rendimento (%)	GA	Tamanho (nm)
		T(°C)	t (h)	AC			
1	T50t2Ac08	-1	-1	-1	71,07	0,19 ± 0,02	228 ± 10 ^c
2	T80t2Ac08	+1	-1	-1	79,87	1,69 ± 0,30	127,5 ± 5,7 ^a
3	T50t6Ac08	-1	+1	-1	62,56	0,84 ± 0,06	337,9 ± 18,2 ^c
4	T80t6Ac08	+1	+1	-1	93,12	2,43 ± 0,07	238,2 ± 50,1 ^c
5	T50t2Ac16	-1	-1	+1	67,69	0,28 ± 0,08	317,6 ± 6,3 ^c
6	T80t2Ac16	+1	-1	+1	92,23	1,80 ± 0,10	152,8 ± 1,7 ^{ab}
7	T50t6Ac16	-1	+1	+1	55,81	0,33 ± 0,06	231,1 ± 3,5 ^c
8	T80t6Ac16	+1	+1	+1	60,00	0,69 ± 0,01	186,4 ± 7,5 ^b
9*	T90t4Ac12	+1,68	0	0	96,78	2,72 ± 0,36	165,2 ± 30,3 ^b
10*	T65t4Ac18	0	0	+1,68	72,55	3,06 ± 0,21	241,3 ± 10,9 ^c

^a T = Temperatura; t = tempo; q = proporção goma:mistura acetilante; níveis de estudo: baixo (-1), médio (0), alto (+1) e extrapolados (+1,68). * Condições experimentais de extrapolação.

Fonte: Autor.

Os melhores resultados foram obtidos nas condições 4, 6 e 9, com rendimentos maior que 90% e grau de acetilação superior a 1,8. As análises estatísticas ANOVA e de regressão linear identificaram que apenas o fator A e o efeito de interação BC foram significativos tanto para o rendimento quanto para o grau de acetilação, o que se verifica pela análise de significância, em que F_0 é maior que $F_{crítico}$, como pode-se observar na Tabela 7.

Tabela 7 - Análise de variância ANOVA (IC 92%): somas quadradas (SQ), médias quadradas (MQ), F_0 e $F_{crítico}$ para Rendimento e Grau de acetilação.

Resposta	Fatores	SQ	GL	MQ	F_0	$F_{CRÍTICO}$
RENDIMENTO	A	579,5	1,0	579,5	13,0	5,3
	B	193,7	1,0	193,7	4,3	5,3
	BC	298,3	1,0	298,3	6,7	5,3
	ABC	221,7	1,0	221,7	5,0	5,3
	Error	133,6	3,0	44,5		
	SQT	1426,9	7,0	203,8		
GRAU DE ACETILAÇÃO	A	30832,6	1,0	30832,6	23,39	5,44
	C	5082,8	1,0	5082,8	3,86	5,44
	BC	7233,0	1,0	7233,0	5,49	5,44
	Error	5272,9	4,0	1318,2		
	SQTOTAL	48421,4	7,0			

Fonte: Autor.

Estes fatores correspondem ao efeito da temperatura e a um efeito de interação entre tempo e quantidade de reagente acetilante. Obtém-se então, após regressão linear a seguinte predição para o efeito das variáveis sobre o grau de acetilação (Y_1 , Eq. 7, $R^2 = 0,80$ e $p < 0,08$) e o rendimento (Y_2 , Eq. 8, $R^2 = 0,62$ e $p < 0,08$):

$$Y_1 = 1,04 + 0,62A - 0,30BC \quad (\text{Eq. 7})$$

A Equação 7 fornece o grau médio de substituição, que é o valor de interseção (1,04), e os fatores que contribuem para isso, explicando 80% da variabilidade do grau de substituição relacionada à temperatura (A) e devido à interação BC combinando a reação tempo (B) e razão GC: acetilante (C).

$$Y_2 = 73 + 8,3A - 6,3BC \quad (\text{Eq. 8})$$

Da mesma forma, a Equação 8 fornece o rendimento médio, que é o valor de interseção (73%), e os fatores que contribuem para ele, relacionados à temperatura (A) e à interação com a reação e o conteúdo de acetilante. O baixo valor do R^2 , correspondente a 62% da variabilidade atribuído ao rendimento, pode ser explicado pela consideração de outros fatores inerentes à recuperação dos produtos como a eliminação de derivados acetilados de baixa massa molar durante a diálise e a perda de material durante a recuperação do produto.

Substituindo as variáveis A, B e C na Eq. 7 e 8 nos níveis normais (-1, +1), uma otimização é alcançada. Maximização para o rendimento e grau de acetilação pode ser teoricamente alcançado substituindo as variáveis A, B e C pela seguinte combinação de valores: +1, -1 +1 ou +1, +1 e -1 respectivamente. Aplicado na Eq. 7, fornecem um grau de acetilação teórico máximo de 1,96. Para Eq. 8, proporcionará um rendimento teórico máximo de 87,6%.

Pode-se verificar que a temperatura é o único fator principal que influencia de forma direta no sistema. Quando esta é trabalhada no nível alto ($A = +1$), tem-se

um aumento significativo tanto no grau de acetilação quanto no rendimento da reação. Desta forma, pode-se interpretar que somente a energia térmica fornecida em nível mais alto consegue interpor a barreira energética (E_{AT}) requerida para a formação dos intermediários de reação precursores dos derivados acetilados. Observa-se também um efeito de interação entre tempo e quantidade acetilante nos dois casos. Quando o tempo da reação é de 6 h, (nível alto, $B = +1$), e a quantidade de acetilante está no nível baixo ($C = -1$), obtém-se bons resultados no grau de acetilação (Reação T80t6Ac08, GS 2,43, Rendimento 93%). Isso se deve ao fator cinético da reação, no qual em um tempo reacional maior, a quantidade de acetilante adicionada é consumida em maior extensão, o que causa aumento no rendimento da reação e no grau de acetilação, uma vez que estão interligados. Por outro lado, o aumento da quantidade de acetilante ($C = +1$) em um tempo mais curto ($B = -1$) tem bom efeito no rendimento, porém é mais discreto no grau de acetilação, (Reação T80t2Ac16, GS 1,80, Rendimento 92%). Apesar de o aumento da quantidade de reagente disponível favorecer também um aumento na velocidade da reação de acetilação, também pode gerar a formação de outros produtos de reação indesejados.

Diante destas considerações, visando obter máximo rendimento e grau de acetilação, mais de um tipo de reação de acetilação foi realizado, nos quais adaptaram-se o tempo e a quantidade de acetilante para níveis intermediários aos testados no delineamento fatorial e aumentou-se a temperatura para 90° C; como resultado, obteve-se o máximo de rendimento e um dos maiores graus de acetilação (Reação 9, derivado T90t4Ac12, GS 2,72, Rendimento 97%). Isso mostra a importância da temperatura como fator preponderante na eficácia da reação, onde a maior energia térmica favorece a formação do intermediário na reação de substituição, mantendo o tempo e a concentração de acetilante em níveis mínimos adequados para permitir a sinergia entre os valores.

Em comparação com trabalhos correlatos de reações de acetilação, observa-se que Chen *et al.* (2014) obtiveram derivados acetilados de polissacarídeos extraídos de *Ganoderma atrum* com rendimentos entre 43 e 82% e graus de acetilação entre 0,71 e 1,04 em reação de acetilação em meio básico. Ressalta-se que houve uma diminuição no rendimento reacional para os produtos mais substituídos, e, dentre os trabalhos avaliados da literatura não foram evidenciados estudos para este parâmetro. Altos graus de substituição foram obtidos

por outros autores usando diferentes mecanismos de reação. Pitombeira *et al.* (2015) e Peredo *et al.* (2015) obtiveram com êxito acetilados polissacarídicos em meio ácido. Pitombeira *et al.* (2015) produziram goma de cajueiro acetilada com DS = 2,80 em sistema reacional com solventes formamida e piridina, enquanto Peredo *et al.* (2015) produziram acetilados de celulose com (DS > 2,00). No estudo de acetilação da pululana em meio ácido usando piridina, Zhang *et al.* (2009) encontraram DS=2,70 e Teramoto e Shibata (2006) produziram acetato de pululana com DS de 1 a 3, onde foi observada a necessidade de trabalhar com altas quantidades de piridina para obter maiores graus de substituição. No entanto, os referidos métodos de acetilação bem sucedidos reportados na literatura utilizam quantidades significativas de reagentes como piridina e formamida, que são consideravelmente mais tóxicos.

Já os trabalhos realizados por Coloussi *et al.* (2015) e Muljana *et al.* (2010) produziram amido modificado com baixo grau de acetilação (0,10 a 0,50 aproximadamente) ao aplicarem reações em meio básico (pH 8,5) com anidrido acético. Xie *et al.* (2015) alcançaram grau de acetilação semelhante na acetilação de polissacarídeo de *Cyclocarya paliurus* com aumento significativo na atividade biológica dos derivados mais substituídos. É válido ressaltar que, embora menos tóxico, o método de acetilação proposto por Xie *et al.* (2015) não foi tão eficaz na substituição da cadeia polissacarídica.

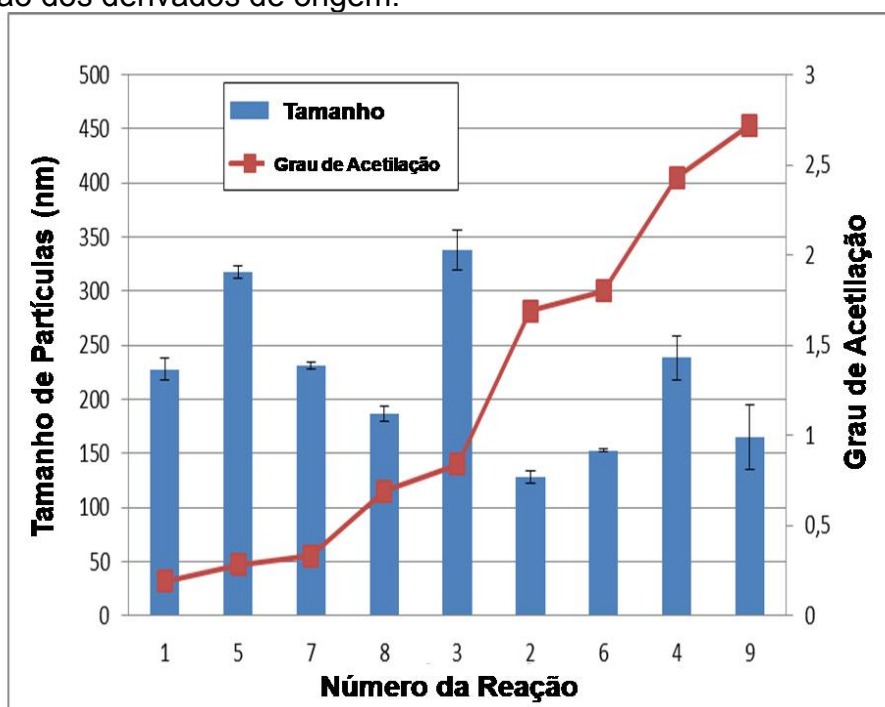
Diante do exposto é possível afirmar que a metodologia proposta neste trabalho levou a uma otimização da reação de acetilação da goma do cajueiro, que promoveu a substituição de no mínimo duas hidroxilas presentes por unidade repetitiva da estrutura nativa do polissacarídeo, possibilitando a obtenção de derivados com altos graus de acetilação nas condições reacionais combinadas de temperatura de 90 °C, tempo 4h e razão acetilante 0,12. Nestas condições citadas, pois foi possível atingir rendimento de 97% e graus de acetilação de 2,72, equivalente aos reportados na literatura, com a vantagem de não utilizar solventes tóxicos.

5.1.1.2 Efeito do grau de acetilação no tamanho de partícula de sistemas auto-formados em diálise

Os sistemas formados apresentaram tamanhos variáveis de aproximadamente 127 a 334 nm. Neste estudo, procurou-se estabelecer uma relação direta entre o grau de acetilação do polissacarídeo e seu correspondente tamanho de partícula quando na formação de um sistema auto-organizado.

Figura 14 ilustra o tamanho das partícula auto-organizadas de goma de cajueiro acetilada de acordo com as condições de reação de acetilação em função também do grau de acetilação de cada polissacarídeo.

Figura 14 - Estudo do tamanho dos sistemas auto-organizados em função do grau de acetilação dos derivados de origem.



Fonte: Autor.

Observa-se pela Figura 14 que existe uma tendência clara da influência do grau de acetilação da estrutura polissacarídica no tamanho final de partículas auto-formadas, possibilitando inferir que majoritariamente os tamanhos dos sistemas formados são inversamente proporcionais ao grau de acetilação. Quando o grau de acetilação é inferior a 1,0 obtém-se tamanho de partícula maiores que 200 nm, como observado nas reações 1, 5, 7 e 3. Por outro lado, quando o grau de acetilação obtido é acima de 1,7, obtém-se partículas auto-formadas com tamanho inferior a

200 nm. Portanto, partículas auto-organizadas de características desejáveis para sistemas de liberação controlada são obtidas quando DS é acima de 1,7, com mais de uma hidroxila substituída por unidade repetitiva. Esses resultados encontram-se em concordância com os encontrados na literatura, pois é usualmente associada à redução do tamanho de partícula com o aumento do grau de acetilação. De fato, quanto maior a substituição acetil na cadeia polissacarídicas, maior a hidrofobicidade do derivado, acarretando em redução da concentração de agregação crítica (CAC) (JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003) fator intrinsecamente ligado ao tamanho dos sistemas auto-organizados formados. Ressalta-se que tais características de interação hidrofóbica e tamanho de partículas são fundamentais para a elaboração de sistemas de carregamento de fármacos mais eficientes e com perfis de liberação controlada (KONG *et al.*, 2013; SARAVANAKUMAR *et al.*, 2010).

É sabido que para a formação de partículas auto-organizadas o polímero deve apresentar característica anfifílica. Desta forma, a reação de substituição de hidroxilas por grupo acetilas em um polissacarídeo hidrofílico deve causar um aumento significativo no grau de hidrofobização da macromolécula para favorecer a formação de sistemas auto-organizados (PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

Burt e Letchford (2007) citam que as nanoesferas apresentam uma matriz sólida, de tamanho compreendido entre os 100 e 200 nm onde o fármaco se encontra dissolvido, aprisionado, ligado quimicamente ou adsorvido aos seus constituintes. As nanocápsulas, por sua vez, apresentam tamanhos entre os 100 e os 300 nm e são, portanto, sistemas de veiculação do tipo núcleo-invólucro, nos quais o fármaco se encontra no núcleo ou cavidade, ou na membrana ou no revestimento polimérico, dependendo dos constituintes da nanocápsula e afinidade do fármaco.

Acredita-se ser de extrema importância o controle do tamanho de partícula em um sistema carreador de fármaco, devido as restrições de tamanho de partícula para determinadas aplicações, como para formulações parenterais (REIS *et al.*, 2006), bem como a influência do tamanho e forma das partículas na modulação do sistema imunológico (KUMAR *et al.*, 2015; JIANG *et al.*, 2008).

5.1.2 Caracterização dos derivados acetilados

Para efeito de caracterização pelas técnicas instrumentais foram selecionadas as amostras: GCI (Goma de cajueiro isolada), T50t2Ac08 (baixa acetilação), T80t2Ac16 (média acetilação) e T65t4Ac18 (alta acetilação).

5.1.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

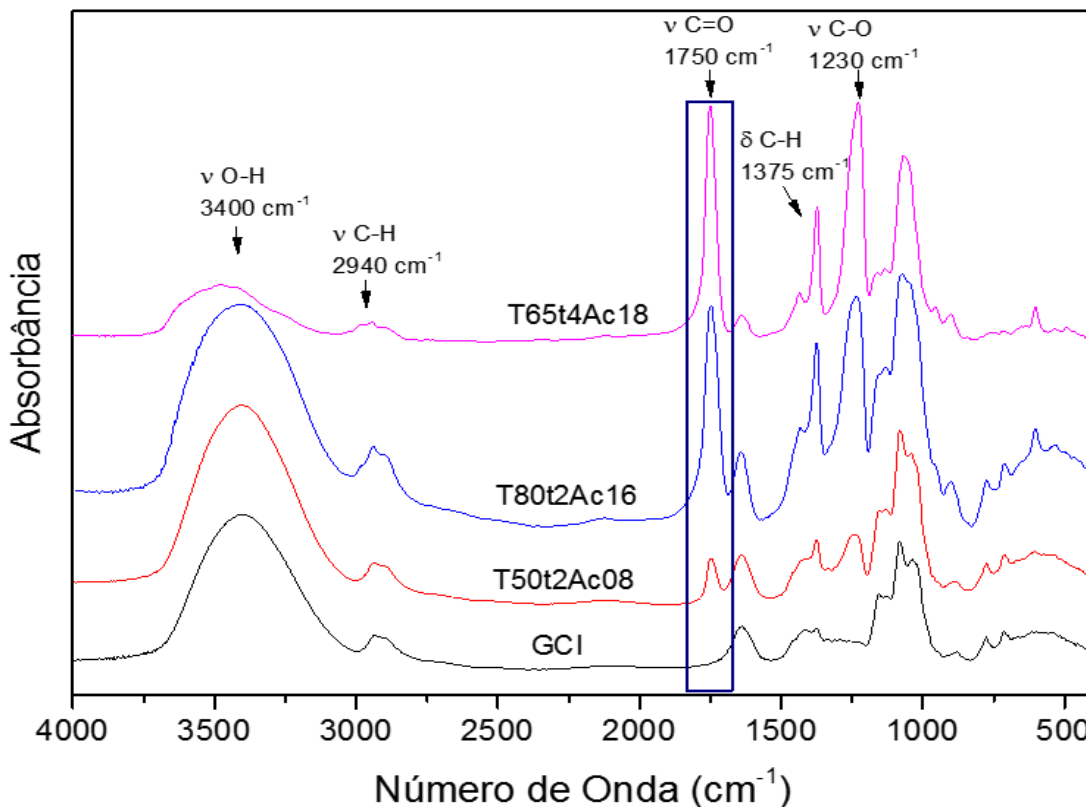
A Figura 15 mostra os espectros de FTIR da goma de cajueiro isolada (GCI) e dos derivados dos graus de acetilação baixo, médio e alto (T50t2AC, T80t2AC16 e T65t4Ac18, respectivamente), embora todos os derivados obtidos tenham sido analisados por esta técnica. Neste espectro, é possível observar que GC isolada apresentou as seguintes características: faixa de absorção de estiramento OH em aproximadamente 3400 cm^{-1} ; banda pequena a 2940 cm^{-1} referente ao estiramento CH; Banda de 1640 cm^{-1} associada à deformação assimétrica do grupo OH; bandas a 1150 , 1090 e 1040 cm^{-1} atribuídas a vibrações de alongamento das ligações glicosídicas C-O-C e OH do grupo alcoólico, respectivamente (SILVA *et al.*, 2016).

Em relação aos espectros atribuídos aos derivados acetilados, observam-se novas bandas: a 1750 cm^{-1} , associada à vibração de estiramento C=O, aproximadamente 1230 cm^{-1} , relacionada à vibração de estiramento C-O de grupamento éster e em 1375 cm^{-1} , associada à deformação angular C-H de CH₃ dos grupos acetil (XU *et al.*, 2010), tais modificações espectrais evidenciam que a rota reacional proposta promoveu efetivamente a inserção do grupo acetil na cadeia polissacarídica (WALZ *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2016; PEREDO *et al.*, 2015).

Com o incremento do grau de acetilação dos produtos de reação observa-se que a absorbância das novas bandas também aumenta, enquanto a banda do estiramento OH diminui, um fenômeno que pode estar associado à redução do caráter hidrofílico do polissacarídeo modificado. Este comportamento foi observado para polissacarídeos modificados por diferentes mecanismos de acetilação: inulina por método enzimático (WALZ *et al.*, 2018), amido (XIAO *et al.*, 2016), goma de *Artemisia sphaerocephala* (LI *et al.*, 2016), goma de cajueiro acetilada em meio piridínico (PITOMBEIRA *et al.*, 2015), ácido hialurônico acetilado em formamida e

reação de piridina (PARK *et al.*, 2010), polpa branqueada de *Eucalyptus globulus* derivatizada em meio ácido (PEREDO *et al.*, 2015).

Figura 15 - Espectros de FTIR da goma de cajueiro pura e seus respectivos derivados.



É possível estudar quantitativamente a hidrofobicidade dos sistemas formados através da razão entre as áreas das bandas de absorvância dos comprimentos de onda característicos às vibrações de estiramento de ligação dos grupos carbonila (C=O) e hidrocarboneto (C-H), 1750 e 2940 cm^{-1} , respectivamente. Os valores encontrados estão mostrados na Tabela 8:

Tabela 8 - Razão entre as bandas $A_{C=O} / A_{C-H}$.

Nº de Reação	Derivado Acetilado	$A_{C=O}$ (1750 cm^{-1})	A_{C-H} (2940 cm^{-1})	$A_{C=O} / A_{C-H}$	GA
1	T50t2Ac08	3,34	5,07	0,66	0,19±0,02
2	T80t2Ac08	8,19	2,88	2,84	1,69±0,30
3	T50t6Ac08	9,59	5,56	1,72	0,84±0,06
4	T80t6Ac08	14,93	4,93	3,03	2,43±0,07
5	T50t2Ac16	0,635	4,94	0,13	0,28±0,08
6	T80t2Ac16	23,9	9,51	2,51	1,80±0,10
7	T50t6Ac16	0,15	8,21	0,02	0,33±0,06
8	T80t6Ac16	5,37	8,53	0,63	0,69±0,01
9	T90t4Ac12	52,26	7,63	6,85	2,72±0,36
10	T65t4Ac18	54,16	6,33	8,55	3,06±0,21

Fonte: Autor.

De acordo com os dados expostos na Tabela 8 é evidente que os derivados com maior grau de acetilação (T80t2Ac08, T80t6Ac08, T80t2Ac16, T90t4Ac12 e T65t4Ac18) apresentam maiores valores para a razão entre as bandas, reiterando as constatações obtidas a partir dos espectros de FTIR estudados.

5.1.2.2 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio ($\text{RMN } ^1\text{H}$)

A Figura 16 apresenta o espectro da goma de cajueiro sem modificação (GCI) e os demais derivados estudados, obtidos em DMSO deuterado a 70 °C. Prótons anoméricos característicos de polissacarídeo podem ser vistos na região 4,4-5 ppm devido à presença de β -d-glucose (4,95 ppm), α -l-ramnose (4,81 ppm), β -d-galactose (1 $\rightarrow$ 3) (4,69 e 4,43 ppm) e ácido β -d-glucurônico (4,51 ppm), em que os desvios químicos de 4,44 ppm e 4,95 ppm são atribuídos a H-1 de galactose e ramnose, respectivamente. Os sinais H-2 a H-5 estão sobrepostos nas regiões de 3,4 a 4,0 ppm e um sinal a 1,3 ppm é devido aos prótons metil da ramnose, observados a 1,26 ppm, refere-se ao grupo metila (H-6) de ramnose (MOURA NETO *et al.*, 2011).

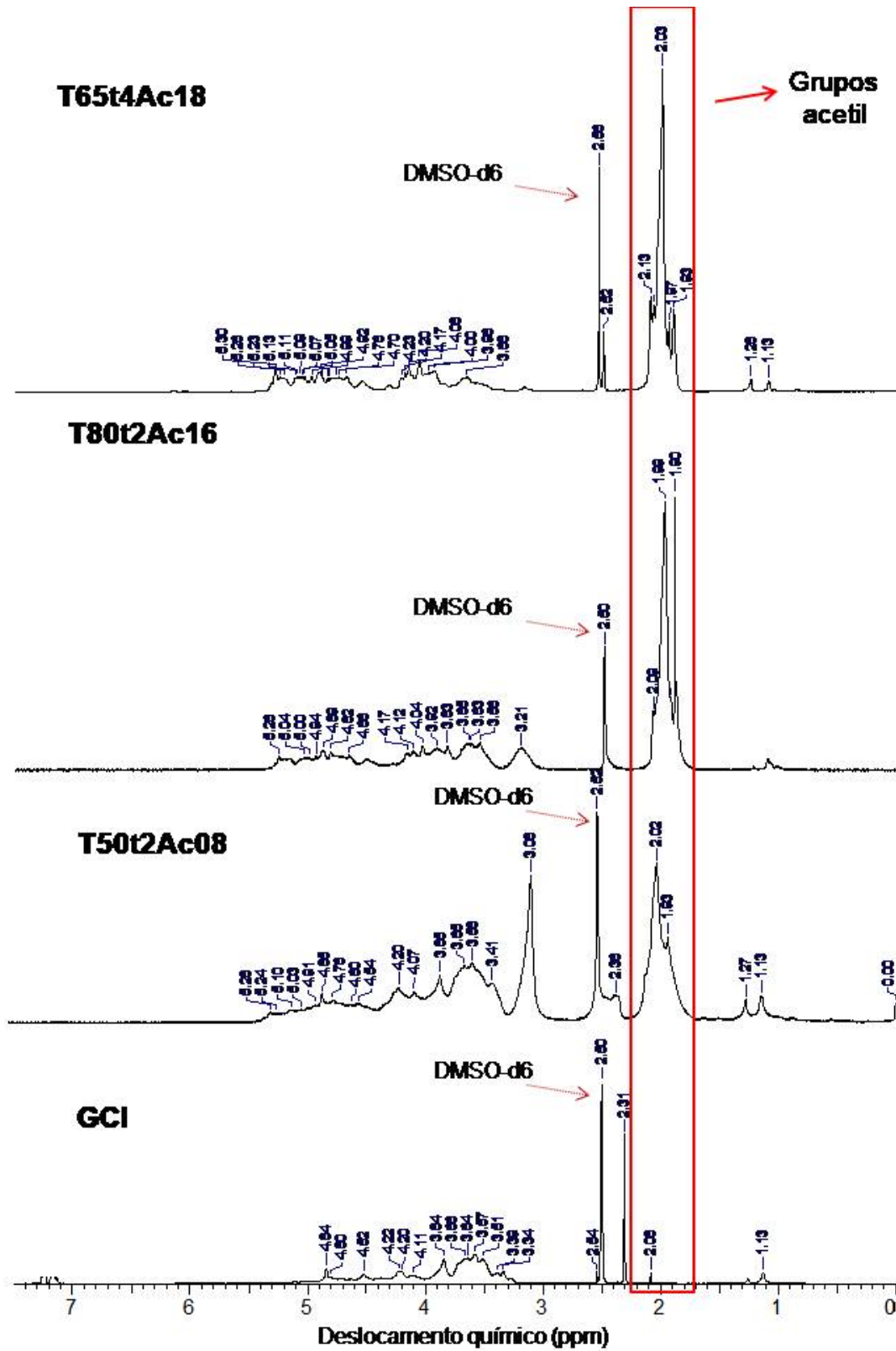
Pela análise dos demais espectros é possível observar o aparecimento de novos sinais localizados em 1,8 - 2,2 ppm, atribuídos aos prótons dos grupos acetila inseridos. Sinais localizados acima de 3,5-4,9 ppm são devidos ao H-1 das unidades

monossacarídicas originadas pela goma de cajueiro bruta. Outros autores reportam comportamento semelhante ao aplicarem metodologias distintas na acetilação de goma de cajueiro (DIAS *et al.*, 2016; PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

Estes dados estão de acordo com relatos anteriores para polissacarídeos diferentes (KEMAS *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2014; TERAMOTO; SHIBATA, 2006) e para a goma de cajueiro (PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

Observa-se também que à medida que aumenta o grau de acetilação dos derivados, todos os espectros apresentam maior multiplicidade e intensidades de pico na região relacionadas ao grupo acetila, destacando a ocorrência do processo de hidrofobização (OKUNLOLA; ADEBAYO; ADEYEYE, 2017).

Figura 16 - Espectros de RMN ^1H da goma de cajueiro pura e seus respectivos derivados.



5.1.2.3 Tamanho de partículas de sistemas auto-organizados

O processo de síntese de nanopartículas é influenciado por algumas variáveis que afetam as propriedades físico-químicas das nanopartículas obtidas, bem como suas aplicações. Uma destas variáveis é a condição sob as quais a fase é adicionada à fase aquosa (RAO; GECKELER, 2011). Ressalta-se que, independente do método de formação dos sistemas nanoparticulados, o tipo de solvente utilizado para dissolver o polímero tem grande influência no tamanho de partículas, propriedades físico-químicas e carregamento de princípios ativos (GAVORY *et al.*, 2011; JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003).

Neste aspecto, foram selecionados três derivados acetilados de baixo, médio e alto grau de substituição para estudo do tamanho de partículas e índice de polidispersividade das nanopartículas auto-organizadas obtidas por diálise e nanoprecipitação. Os valores obtidos constam na Tabela 9.

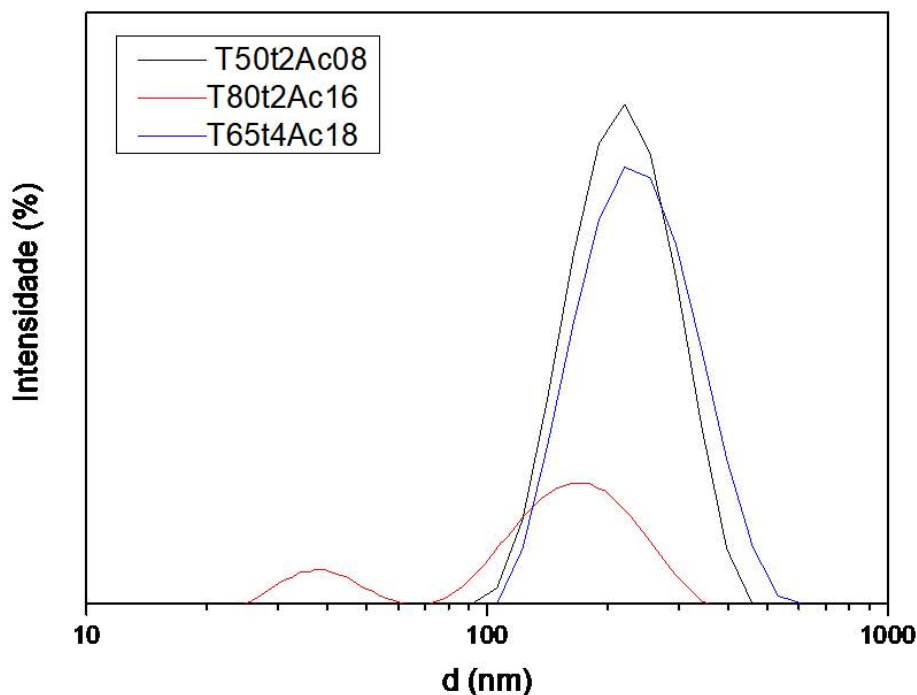
Tabela 9 - Estudo de tamanho das nanopartículas de goma de cajueiro acetilada.

Método	Derivado	Tamanho de Partícula (nm)	Índice de Polidispersividade
Diálise	T50t2Ac08	228 ± 10^a	$0,363 \pm 0,01$
	T80t2Ac16	153 ± 2^b (87,5%) 36 ± 5 (12,5%)	$0,350 \pm 0,01$
	T65t4Ac18	241 ± 11^a	$0,229 \pm 0,02$
Nanoprecipitação	T50t2Ac08	N/A	N/A
	T80t2Ac16	329 ± 10^c	$0,105 \pm 0,03$
	T65t4Ac18	188 ± 6^d	$0,209 \pm 0,01$

Fonte: Autor.

As distribuições de tamanho para as nanopartículas formadas por diálise estão apresentadas na Figura 17.

Figura 17 - Distribuição de tamanho para os sistemas auto-organizados por diálise.



Para os sistemas elaborados por processo de diálise foram obtidas nanopartículas com tamanhos entre 153 e 241 nm, destacando-se o derivado T80t2Ac16 por formar sistemas auto-organizados com menor diâmetro de partícula (aproximadamente 153 nm na frequência de 87,5%) e tendência bimodal, enquanto os demais (T50t2Ac08 e T65t2Ac16) obtiveram valores que não se diferem estatisticamente entre si e distribuição de tamanho com tendência unimodal. Desta forma, esta análise não é conclusiva para estabelecer relação entre o grau de acetilação do derivado precursor e o tamanho das nanopartículas formadas.

Pitombeira *et al.* (2015) estudaram a formação de nanopartículas auto-organizadas de goma de cajueiro acetilada por método catalisado por piridina (GA = 2,8) e obtiveram tamanho de 179 nm. Silva *et al* (2016) estudaram a formação de nanopartículas com o mesmo produto e obtiveram tamanho de 302 nm, porém, neste trabalho o derivado acetilado foi inicialmente dissolvido em acetona.

Shi *et al.* (2018) obtiveram nanopartículas conjugadas de amido-dopamina com diâmetros de aproximadamente 151 nm. Jung, Jeong-II e Kim (2003) elaboraram nanopartículas de acetato de pululana em diferentes graus de substituição e obtiveram valores entre aproximadamente 127 - 416 nm.

Najafi *et al.* (2017) estudaram o método de auto-organização por diálise para a elaboração de conjugados anfifílicos de ácido hialurônico e obtiveram nanopartículas com diâmetros entre 274 - 356 nm.

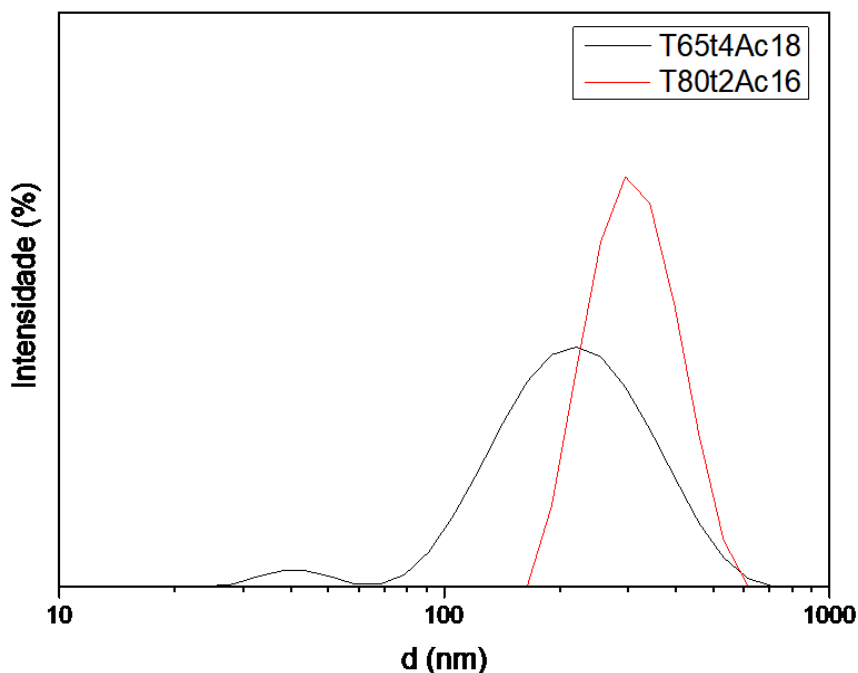
Através da avaliação de diversos estudos realizados com polissacarídeos modificados é possível ressaltar que o tamanho dos sistemas auto-organizados em diálise é inversamente proporcional ao grau de substituição da cadeia polimérica, acarretando em diferentes possibilidades de aplicação e funcionalidade (JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003; SARAVANAKUMAR *et al.*, 2010; NAJAFI *et al.*, 2017). No entanto, para o método citado não foi observada essa relação nos sistemas estudados.

O índice de polidispersividade (IPD) é definido como padrão de homogeneidade de dispersão, podendo apresentar valores de 0 a 1. Valores próximos a 1 indicam a heterogeneidade do sistema, enquanto índices inferiores a 0,5 podem ser indicativos de sistemas mais homogêneos (NAJAFI *et al.*, 2017). Os valores obtidos foram entre 0,229 e 0,363, mostrando que os derivados utilizados formaram sistemas homogêneos pelo método de diálise. Observou-se IPD menor para as nanopartículas do derivado mais substituído (T65t4Ac18). Os índices foram inversamente proporcionais ao grau de substituição dos produtos acetilados, assim, concordando com estudos anteriores (JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003; SARAVANAKUMAR *et al.*, 2010; NAJAFI *et al.*, 2017).

Dias *et al.* (2016) obtiveram IPD de aproximadamente 0,187 para nanopartículas de goma de cajueiro acetilada, e o trabalho realizado por Pitombeira *et al.* (2015) apresentou 0,117, valores estes inferiores aos aqui apresentados. Ambos os estudos usaram material com GA de aproximadamente 2,8.

Sobre os sistemas nanoprecipitados não foi possível obter nanopartículas a partir do derivado T50t2Ac08 (baixa acetilação). Os derivados T80t2Ac16 e T65t2Ac16 (média e alta acetilação) apresentaram tamanhos de partículas de aproximadamente 329 e 188 nm, respectivamente. O derivado mais substituído apresentou nanopartículas menores, concordando com as constatações anteriormente apresentadas em trabalhos disponíveis na literatura (JUNG; JEONG-IL; KIM, 2003; SARAVANAKUMAR *et al.*, 2010; NAJAFI *et al.*, 2017). A distribuição de tamanho dos mesmos está mostrada na Figura 18:

Figura 18 - Distribuição de tamanho para os sistemas auto-organizados por nanoprecipitação.



De acordo com a Figura 18 e os dados expostos anteriormente, dentre as amostras estudadas para os sistemas obtidos via nanoprecipitação, o derivado T65t4Ac18 formou nanopartículas com menor tamanho de partículas em maior frequência e com tendência levemente bimodal, muito embora esta distribuição seja mais larga, por apresentar maior índice de polidispersividade.

Ao estudarem o método de nanoprecipitação na elaboração de sistemas auto-organizados com policaprolactona Badri *et al.* (2017) obtiveram tamanhos de partículas entre 220 e 245 nm. Alguns sistemas propondo a utilização de zeína e goma arábica obtiveram nanopartículas com tamanhos de aproximadamente 130 nm e IPD inferiores a 0,2 (LI *et al.*, 2018; CHEN; ZHONG, 2015).

Gavory *et al.* (2011) utilizaram dextrana enxertada com PLA em diferentes graus de substituição polissacarídica e obtiveram nanopartículas de tamanhos entre 141 - 224 nm e IPD inferiores a 0,2. Chang *et al.* (2018) obtiveram nanopartículas de amilose com tamanho médio de aproximadamente 344 nm e IPD de 0,79. Além disso, observaram uma ampla distribuição com tendência bimodal e a presença de agregados.

Sobre o IPD, os sistemas propostos apresentaram valores de 0,1 e 0,2 para os derivados de média e alta acetilação, sendo estes razoavelmente baixos em comparação aos obtidos pelo método de diálise e indicativos que ambos os produtos

reacionais utilizados possibilitaram a formação de nanopartículas estáveis (NAJAFI *et al.*, 2017; MOHANRAJ; CHEN, 2006).

Dias *et al.* (2016) elaboraram nanopartículas de goma de cajueiro acetilada por diálise e nanoprecipitação, obtiveram material com tamanho de aproximadamente 80 nm e distribuição unimodal. Ao compararem os dois métodos, os autores relatam que embora a nanoprecipitação possibilite a obtenção de menores tamanhos de partícula, a síntese por auto-organização em diálise fornece materiais com menores índices de polidispersividade, assim, acarretando em sistemas coloidais mais estáveis (MOHANRAJ; CHEN, 2006).

Em contraste, os resultados apresentados sugerem que para os derivados acetilados utilizados, o método de nanoprecipitação forneceu sistemas com menores índices de polidispersividade, e menor tamanho para T65t4Ac18 acarretando em maior estabilidade coloidal. Os valores apresentados sugerem que os derivados formaram sistemas auto-organizados com características de tamanho inferiores a 350 nm, possibilitando a aplicação dos mesmos na incorporação de princípios ativos.

5.1.3 Conclusão parcial

A metodologia da acetilação em meio ácido, além de ser mais viável ambientalmente, usando os princípios da química limpa possibilitou a formação de derivados de diferentes graus de substituição polissacarídica e propriedades de tamanho de partículas, confirmado pelas técnicas de caracterização empregadas.

O estudo da reação de acetilação através do delineamento fatorial 2³ sem réplicas permitiu relacionar os parâmetros reacionais (temperatura, proporção de polissacarídeo e acetilante e tempo de reação) com o rendimento do processo, o grau de acetilação dos derivados obtidos e o tamanho das partículas geradas por auto-organização em diálise. Nesta etapa observou-se que a reação foi influenciada diretamente pela temperatura e pela sinergia entre quantidade de acetilante e tempo, no entanto, tais variáveis tiveram efeito mais significativo no grau de acetilação dos produtos obtidos.

O emprego de condições reacionais mais brandas (-1, -1, -1) obteve excelente rendimento reacional (93%), porém, formou derivado menos acetilado, com GA de aproximadamente 0,2. O baixo grau de substituição restringiu a

formação das nanopartículas por nanoprecipitação, reduzindo sua possibilidade de aplicação.

A temperatura de 80° C combinada com menor tempo de reação e maior nível de temperatura propiciou a formação do derivado T80t2Ac16, com acetilação intermediária (GA = 1,8), rendimento reacional de 92% e nanopartículas por diálise com tamanho de 153 nm. Porém, por nanoprecipitação o tamanho foi praticamente o dobro.

Condições mais enérgicas proporcionaram a formação de derivados mais acetilados como T80t6Ac08 e T65t2Ac18 que apresentaram GA de aproximadamente 2,4 e 3, respectivamente. Entretanto, o ponto de extrapolação T65t2Ac18 apresentou rendimento substancialmente reacional menor (73%). Apesar de os dois produtos possibilitarem a formação de sistemas auto-organizados por diálise, T65t2Ac18 apresentou partículas com características de tamanho mais estáveis no que se refere ao IPD.

Assim, os sistemas obtidos pelos dois métodos estudados apresentaram características razoáveis para a elaboração de sistemas de carregamento de princípios ativos hidrofóbicos. Entretanto, o produto T65t2Ac18 destacou-se por apresentar alto rendimento de formação, alto grau de substituição e boas propriedades de tamanho nos dois métodos de elaboração de nanopartículas.

5.2 Aplicação da Goma de Cajueiro Acetilada em Sistemas de Carreamento de Fármacos Hidrofóbicos

5.2.1 Sistemas auto-organizados para carreamento de AmB

5.2.1.1 Eficiência de encapsulamento

Para analisar a aplicação dos derivados acetilados de média e alta substituição polissacarídica (T80t2Ac16 e T90t4Ac12) foram elaboradas nanopartículas por auto-organização em diálise para carreamento de anfotericina-B. Nesta etapa os produtos reacionais e matrizes com o fármaco são respectivamente denominados: GCMA e GCAA1; GCMA-AmB e GCAA1-AmB os dados do desempenho das matrizes desenvolvidas estão explanados na Tabela 10:

Tabela 10 - Encapsulamento das nanopartículas para carreamento de AmB.

Derivado de Origem	Grau de Acetilação	Nanopartículas AmB	Dopagem (%)	Eficiência de Encapsulamento (%)
T80t2Ac16	1,80 ± 0,10	GCMA-AmB	6,50 ± 0,78	37 ± 6
T90t4Ac12	2,72 ± 0,36	GCAA1-AmB	11,23 ± 1,35	73 ± 6

Fonte: Autor.

De acordo com os dados expostos na Tabela 10 é possível observar que as nanopartículas GCAA1-Amb apresentaram melhor eficiência de encapsulamento e carreamento do princípio ativo, podendo este fato ser associado ao maior grau de acetilação do derivado de origem (GA = 2,72 ± 0,36), possibilitando melhor interação entre os grupamentos hidrofóbicos do derivado e do princípio ativo estudado.

Pippa *et al.* (2014) propuseram a encapsulação de anfotericina B utilizando sistemas de copolímeros de poli (óxido de isopreno-b-etileno) anfifílico em blocos e obtiveram eficiências entre 67 e 93%. Foi observado pelos autores que os copolímeros mais hidrofóbicos apresentaram os maiores percentuais, onde constatou-se que a hidrofobicidade da matriz pode acarretar em aumento da eficiência de encapsulamento do princípio ativo, fato corrobora com os resultados apresentados neste trabalho, conforme apresentado na Tabela 10.

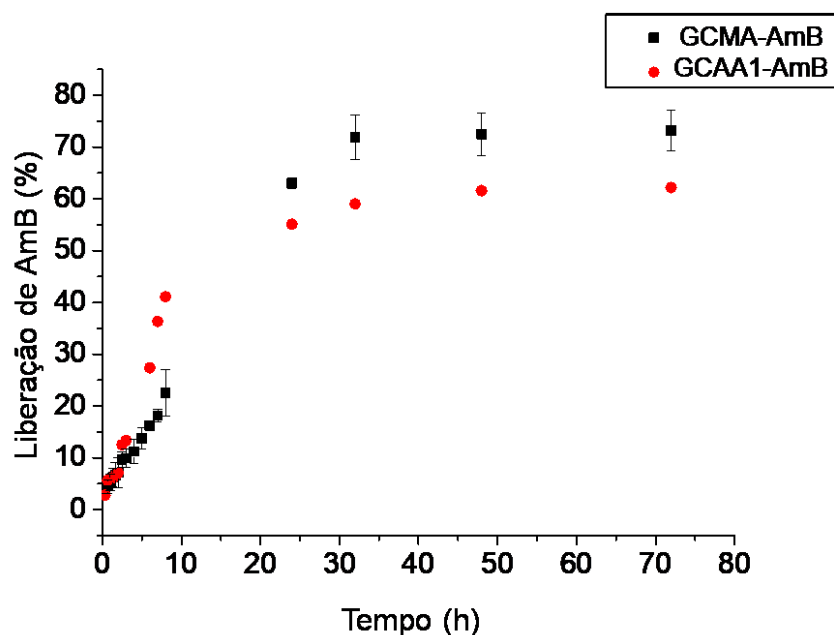
Khan *et al.* (2016) elaboraram microesferas de AmB-PLGA por método de evaporação do solvente e obtiveram eficiência de aproximadamente 65%. Wang *et*

al. (2016) obtiveram de 66 a 76% de eficiência ao encapsularem anfotericina em micelas de policarbonato biofuncionalizado. Marcano *et al.* (2018) obtiveram encapsulamento de aproximadamente 70% em nanopartículas de quitosana revestidas de policaprolactona. Richter *et al.* (2018) obtiveram eficiências de aproximadamente 21 a 48% ao utilizarem goma de cajueiro enxertada na incorporação de AmB via emulsões de Pickering.

Observa-se que os valores obtidos estão em concordância com os dados disponíveis na literatura, no entanto, vale ressaltar que o baixo rendimento da formulação GCMA-AmB pode estar associado à baixa interação entre o derivado e o fármaco, possibilitando a formação de agregados, evidenciados pelo aparecimento de bandas em UV-Vis no comprimento situado entre 300 e 330 nm, condizente com os resultados obtidos por Wang *et al.* (2016).

5.2.1.2 Perfil de liberação das nanopartículas incorporadas com AmB

O perfil de liberação em massa de anfotericina B (AmB) exposto na Figura 19 mostra um efeito de liberação imediata nas primeiras 8 h com percentual de AmB liberada superior para as nanopartículas GCAA1-AmB, seguido de uma liberação controlada até 72 h. O efeito de *burst release* pode ocorrer devido ao princípio ativo adsorvido na superfície da nanopartícula (PITOMBEIRA *et al.*, 2015). É observado que o fármaco presente em GCMA-AmB tende a apresentar liberação mais controlada no tempo estudado e em maior percentual em massa (73 %), sendo notável que GCAA1-AmB liberou massa substancialmente menor, de aproximadamente 62%. Corroborando com o que foi observado neste estudo alguns autores reportam que a hidrofobização de polissacarídeos pode favorecer o aumento da eficiência de encapsulamento, porém diminui as taxas de liberação de princípios ativos hidrofóbicos (SHi *et al.*, 2012; LU *et al.*, 2011).

Figura 19 - Perfil de liberação de AmB *in vitro*

Ao utilizarem copolímeros em blocos como vetores poliméricos, Pippa *et al.* (2014) obtiveram diferentes perfis de liberação em função da concentração inicial de fármaco utilizada na formulação. Nas proporções intermediária e maior os autores obtiveram liberação máxima em 60% de AmB em 8 h.

Wang *et al.* (2016) desenvolveram micelas de policarbonato funcionalizadas com PEG e DBU separada e simultaneamente, nas quais as micelas utilizando apenas DBU apresentaram perfil de liberação em explosão antes de 24h, semelhante ao da AmB em formas comerciais (Free AmB e Fungizone ©), já as demais formulações com copolímeros em blocos (polietilenoglicol e polietilenoglicol + policarbonato) apresentaram perfil de liberação de aproximadamente 60% controlada durante 120 h.

O perfil de liberação obtido por Khan *et al.* (2016) em microesferas de fibrina-AmB apresentou um padrão de liberação sustentada em pH 7, onde apenas 10 a 30% de AmB foram liberados nas primeiras 48 h. O restante dos 89% da AMB foi liberado da formulação em uma semana.

Nishi *et al.* (2017) estudaram o perfil de liberação de AmB conjugada com goma arábica oxidada via base de Schiff e obtiveram aproximadamente 70% do princípio ativo liberado em PBS, no tempo de 50 h.

Os resultados apresentados neste trabalho sugerem que os sistemas de liberação propostos apresentaram percentuais superiores e tempos reduzidos quando comparados a alguns trabalhos citados. Assim, os derivados obtidos constituem uma alternativa bastante viável para o encapsulamento de AmB por auto-organização em diálise, além de se tratar de uma matéria prima natural funcionalizada por método quimicamente mais limpo.

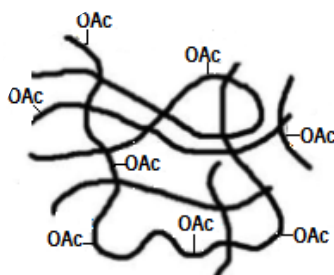
5.2.2 Estudo das emulsões de Pickering para incorporação de indometacina

Nesta seção serão abordados primeiramente os resultados acerca dos estudos das nanopartículas elaboradas por nanoprecipitação para a composição da fase aquosa do sistema visando a estabilização superficial das emulsões de Pickering. Em seguida, serão estudados os fatores que influenciam nas propriedades destas emulsões, sendo avaliados os efeitos da variação da força iônica do meio e grau de acetilação do derivado utilizado na composição da fase aquosa. Por último, a incorporação da indometacina como modelo de fármaco hidrofóbico, expondo a distribuição do tamanho de partícula, eficiência de encapsulamento e perfil de liberação *in vitro*.

5.2.2.1 Estudo das nanopartículas auto-organizadas para estabilização das emulsões de Pickering.

A priori, foi estudado o efeito da concentração da goma acetilada nos parâmetros de tamanho, polidispersividade e potencial zeta das nanopartículas preparadas via nanoprecipitação, representada na Figura 20. Nas etapas posteriores, estes sistemas auto-organizados foram aplicados na composição da fase aquosa das emulsões de Pickering, promovendo a estabilização superficial das mesmas.

Figura 20 - Representação esquemática das nanopartículas auto-organizadas de goma de cajueiro acetilada.



Fonte: Autor.

O esquema apresentado na Figura 20 mostra a estrutura de enovelamento das cadeias de GC acetiladas na formação do sistema de nanopartículas auto-organizadas, onde OAc são os grupos hidrofóbicos que possibilita a aproximação intra e intercadeias.

Os dados sobre tamanho, índice de polidispersividade e potencial zeta das nanopartículas obtidas consta na Tabela 11.

Tabela 11 - Influência da concentração de goma acetilada nas nanopartículas.

Derivado	Concentração (mg.mL ⁻¹)	Tamanho de Partículas (nm)	Índice de Polidispersividade	Potencial zeta (mV)
GCMA	0,10	400±32 ^a	0,392±0,064 ^{a, b}	-15,1±1,01 ^a
(T80t2Ac16,	0,25	375±20 ^a	0,549±0,037 ^c	-12,2±0,16 ^b
GA = 1,8)	0,50	196±30 ^{b, c}	0,442±0,050 ^{a, c}	-20,8±1,05 ^c
GCAA2	0,10	179±6 ^b	0,354±0,041 ^b	-23,8±1,51 ^c
(T65t4Ac18,	0,25	268±20 ^c	0,825±0,062 ^d	-27,0±0,31 ^d
GA = 3)	0,50	205±16 ^b	0,550±0,035 ^c	-29,4±0,903 ^e

*As letras sobrescritas diferentes indicam a diferença significativa dentro da mesma coluna (p < 0,05).

Fonte: Autor.

De um modo geral, para os produtos de reação estudados foram obtidos tamanhos entre aproximadamente 180 e 400 nm, IPD entre 0,39 e 0,825 e potenciais zeta entre -12 e -29 mV.

Observa-se que no derivado GCMA o tamanho de partícula é inversamente proporcional à concentração polissacarídica, embora as amostras

preparadas a 0,10 e 0,25 mg.mL⁻¹ não apresentem diferença estatisticamente significativa entre si, porém as nanopartículas preparadas a 0,50 mg.mL⁻¹ apresentaram tamanho substancialmente menor aos obtidos pelas demais concentrações estudadas (diferença de aproximadamente 50%). Os índices de polidispersividade obtidos sugerem que os sistemas nanoparticulados obtidos possuem razoável homogeneidade coloidal. No entanto, não se pode estabelecer proporcionalidade deste parâmetro com a quantidade de polissacarídeo dos mesmos. Para este derivado, destacou-se a formulação com 0,50 mg.mL⁻¹, visto que o sistema obtido apresentou menor tamanho de partícula, IPD e maior valor potencial zeta (em módulo), tendo assim características coloidais mais estáveis (MOHANRAJ *et al.*, 2006).

Diante dos dados apresentados, as nanopartículas formuladas com o derivado mais acetilado (GCAA2) não sofreram influência da concentração no seu tamanho. O índice de polidispersividade sofreu uma oscilação, e mostrou um alto valor (0,825) para a amostra preparada a 0,25 mg.mL⁻¹, indicando heterogeneidade neste sistema. As demais concentrações acarretaram na formação de nanopartículas homogêneas e relativamente estáveis. O potencial zeta mostrou-se inversamente proporcional ao teor de polissacarídeo. Para este produto reacional destacou-se a formulação mais concentrada em virtude de compilar melhores propriedades para a obtenção de nanopartículas com maior estabilidade.

Ao compararmos os sistemas originados pelos dois polissacarídeos acetilados foi observado que GCMA apresentou nanopartículas com tamanhos mais variáveis e maiores (exceto em 0,50 mg.mL⁻¹) em função da concentração, embora não tenha sido possível inferir uma relação direta entre os dois fatores. Os índices de polidispersividade foram mais variáveis em GCAA2, na concentração de 0,50 mg.mL⁻¹ um sistema mais heterogêneo e relativamente instável. O potencial zeta apresentou-se negativo em todas as concentrações estudadas, entretanto em GCAA2 foi observado que os valores são maiores em módulo que os apresentados por GCMA.

Ressalta-se que a concentração de partículas dispersas em solução interfere diretamente na estabilidade da emulsão contra fenômenos de coalescência, em virtude da relação com a área da interface óleo-água (BINKS; PHILLIP; RODRIGUES, 2005; MWANGI *et al.*, 2016).

Ge *et al.* (2017) obtiveram emulsões de Pickering estabilizadas por nanopartículas de batata doce e amido de milho com diâmetros entre 100 e 220 nm e melhor estabilidade. Desta forma, os fatores que influenciam o tamanho podem ser utilizados com a finalidade de modular características desejáveis para a emulsão.

5.2.2.2 Estudo dos fatores de estabilização das emulsões de Pickering

Os dados referentes ao estudo dos parâmetros de estabilidade das emulsões em função da força iônica e grau de substituição dos derivados utilizados na formação das nanopartículas estão explanados na Tabela 12.

Tabela 12 - Estudo dos parâmetros de estabilidade das emulsões de Pickering.

FI*	GCMA (T80T2Ac16, GA = 1,8)				GCAA2 (T65t4Ac18, GA = 3)			
	Tamanho de Partículas (nm)	Variação de Tamanho (%)	ζ (mV)	Creaming (%)	Tamanho de Partículas (nm)	Variação de Tamanho (%)	ζ (mV)	Creaming (%)
Sem ajuste	289±12	-10,08	-1,05	12±1	271±29	39,55	-49±3	8
50	385±18	3,1	-63±1	20±2	259±34	20,67	-1,07	12 ±1
100	589±14	0,17	-60±3	18±1	471±30	-37,35	-47±3	10
150	246±36	-32	-60 ±2	15±1	292±30	36,31	-51±2	10±1
300	195±29	-87,16	-1,02	10	320±33	-0,37	-29±1	11

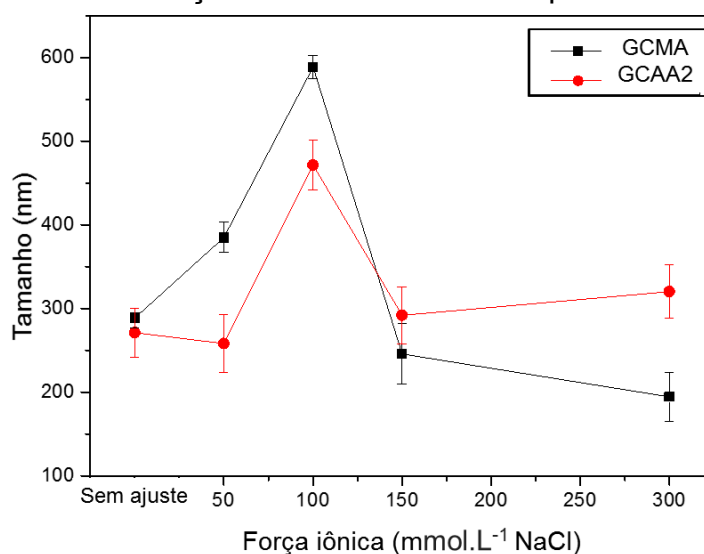
*FI = Força iônica

Fonte: Autor.

5.2.2.2.1 Tamanho de partículas

O tamanho de partículas das emulsões de Pickering em função da força iônica, para as formulações estudadas estão apresentadas na Figura 21.

Figura 21 - Efeitos da força iônica no tamanho de partícula das emulsões.



Para as emulsões estabilizadas com as nanopartículas obtidas com os derivados de diferentes graus de acetilação e sem ajuste de força iônica não foram observadas diferenças significativas de tamanho (Tabela 12). Entretanto, com o incremento da força iônica até FI=100 mmol.L⁻¹ NaCl, foi observado um aumento gradativo do tamanho das gotículas das emulsões para os graus de acetilação médio e alto (GCMA e GCAA2, respectivamente). Neste caso, a presença de íons pode atuar, favorecendo a repulsão eletrostática entre as partículas, dispersando as cargas e diminuindo o empacotamento da estrutura polissacarídica ("salting-out") que estabiliza as emulsões em estudo, favorecendo assim, o aumento do tamanho das gotículas das emulsões geradas (SHAO *et al.*, 2018). O valor máximo de variação de tamanho em FI=100 mmol.L⁻¹ NaCl também foi observado no sistema reportado por Zhu *et al.* (2018), para emulsões com proteína da soja, onde se verificou aumento de tamanho em 100 mmol.L⁻¹ NaCl e decréscimo entre 200 e 500 mmol.L⁻¹ NaCl; os autores atribuíram tal comportamento à melhoria das interações interpartículas na presença de sal, fato corroborado por outros autores (LIU; TANG., 2016; LIU *et al.*, 2013).

Para as emulsões formuladas com o derivado de maior grau de acetilação (GCAA2) os tamanhos obtidos em FI= 150 e 300 mmol.L⁻¹ NaCl não diferem estatisticamente do apresentado pela emulsão formulada sem ajuste de força iônica, demonstrando assim maior estabilidade em função da variação da concentração salina do meio.

Vários autores reportam acerca de variações de tamanho de gotículas de emulsões de Pickering em função da força iônica: Mwangi *et al.* (2016) investigaram emulsões estabilizadas por nanopartículas de quitosana em forças iônicas de 0 a 500 mmol.L⁻¹ NaCl e não observaram variações de tamanho significativas, revelando a formação de agregados em todas as concentrações estudadas. Lu *et al.* (2018) ao estudarem emulsões estabilizadas por partículas de amido, também, não observaram efeito significativo em forças iônicas de 0 a 500 mmol.L⁻¹, atribuindo tal efeito à fraca repulsão eletrostática entre as partículas, porém, em menores concentrações de sal. Shao *et al.* (2018) afirmam que nestas condições de FI o tamanho pode aumentar em detrimento da ocorrência de floculação. Entretanto, Li *et al.* (2018) obtiveram aumento gradual de tamanho em emulsões estabilizadas por nanopartículas de zeína/ goma arábica, proporcional ao incremento da concentração salina, associado a quebra do equilíbrio da interface óleo-água, levando a agregação de gotículas.

Pelos dados expostos, as concentrações salinas estudadas, exceto em FI= 50 e 100 mmol.L⁻¹, possibilitaram a formação de emulsões com tamanhos inferiores a 300 nm, tornando essas emulsões sistemas viáveis para o encapsulamento de princípios ativos.

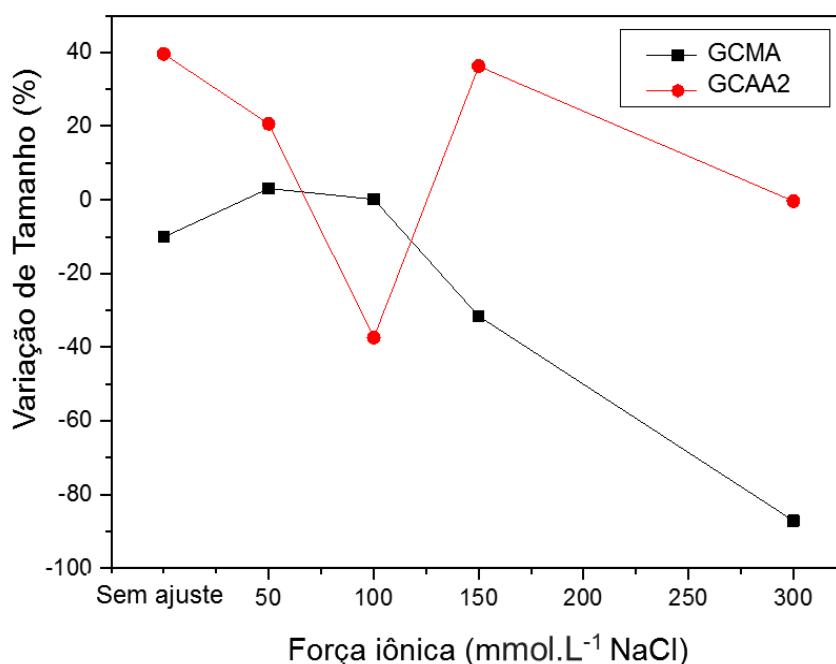
5.2.2.2.2 Grau de Acetilação

Com relação ao grau de acetilação dos derivados precursores das nanopartículas utilizadas na estabilização das emulsões é perceptível que CGMA apresenta gotículas de maiores tamanhos para as concentrações de 0, 50 e 100 mmol.L⁻¹ de NaCl. Os menores tamanhos apresentados por CGAA2 são atribuídos ao seu maior grau de substituição em grupamentos acetila, propiciando maior interação hidrofóbica com os constituintes da fase orgânica, mostrando assim melhor propriedade de superfície (dupla molhabilidade). Em FI=150 mmol.L⁻¹ de NaCl as formulações estudadas não apresentaram diferença significativa, porém em FI=300 mmol.L⁻¹ NaCl a emulsão composta por GCMA apresentou gotícula com tamanho substancialmente menor.

5.2.2.2.3 Estabilidade de armazenamento

A estabilidade de armazenamento do tamanho das partículas de emulsão após 7 dias, como variações percentuais no tamanho em uma dada força iônica, é representada na Figura 22.

Figura 22 - Efeitos da força iônica na variação percentual do tamanho de partícula das emulsões.



As emulsões estudadas apresentaram diferentes variações de tamanho no período de 7 dias de armazenamento. De uma maneira geral, as emulsões estabilizadas pelas nanopartículas obtidas com o derivado GCMA, com baixo GA, apresentaram variações pouco significativas durante o tempo de armazenamento, para forças iônicas FI= 0, 50 e 100 mmol.L⁻¹ NaCl, fato que pode ser explicado pela magnitude do potencial zeta apresentado por esses sistemas (FI=50 e FI=100) que possibilita a ocorrência de sistemas estáveis, ocasionando menores variações. Por outro lado, para FI=150 e mmol.L⁻¹ NaCl é evidenciado que as emulsões acima apresentam decréscimos drásticos no tamanho das gotículas, possivelmente devido a grande repulsão eletrostática dentro da própria gotícula levando à floculação causada pela adição de íons salinos (SHAO *et al.*, 2018).

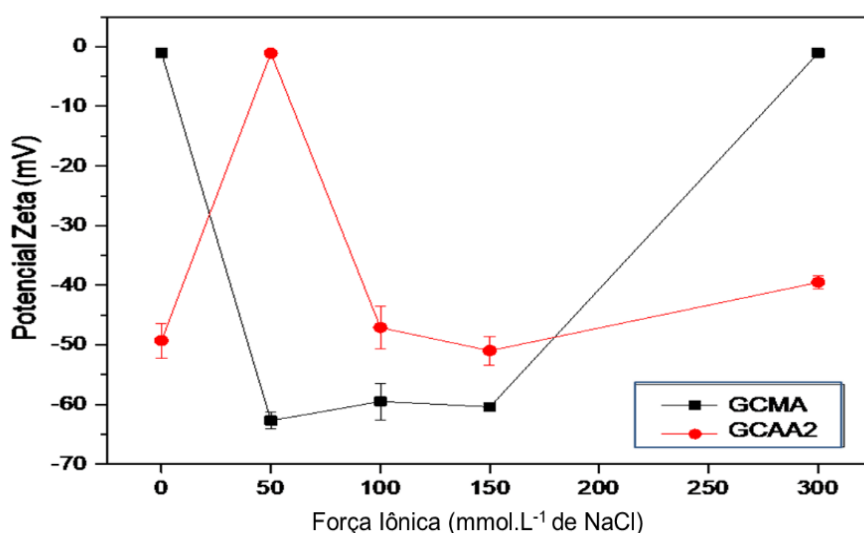
Em contraste, as emulsões formuladas com GCAA2 apresentaram variações de tamanho mais significativas, tanto negativas quanto positivas. Observa-

se que para $FI=100 \text{ mmol.L}^{-1}$ de NaCl houve uma redução de aproximadamente 40% do tamanho das gotículas, enquanto que para $FI=150 \text{ mmol.L}^{-1}$ de NaCl houve um aumento de tamanho de aproximadamente 40% que pode ser atribuído à coalescência de gotículas menores. Já para força iônica mais elevada, $FI=300 \text{ mmol.L}^{-1}$ de NaCl, observa-se que a variação foi de aproximadamente 10%.

5.2.2.2.4 Potencial zeta

O estudo sobre a variação do potencial zeta das emulsões em função da força iônica para as emulsões estabilizadas pelos derivados modificados está apresentado na Figura 23:

Figura 23 - Efeitos da força iônica no potencial zeta das emulsões.



Para as emulsões preparadas com nanopartículas com derivado de médio grau de acetilação, CGMA, pode-se observar uma tendência geral de diminuição do potencial zeta como aumento da força iônica, até $FI = 150 \text{ mmol.L}^{-1}$ NaCl, provavelmente devido à presença de cargas negativas expostas pela interação entre a superfície das partículas de emulsão e os íons presentes em solução, acarretando em sistemas que possuem repulsão eletrostática. Observa-se ainda que as formulações apresentaram potenciais com alto valor absoluto, fato que as tornam mais estáveis contra fenômenos de floculação e coalescência, em virtude do

aumento de forças repulsivas entre as gotículas (WEN *et al.*, 2014; DICKINSON, 2009).

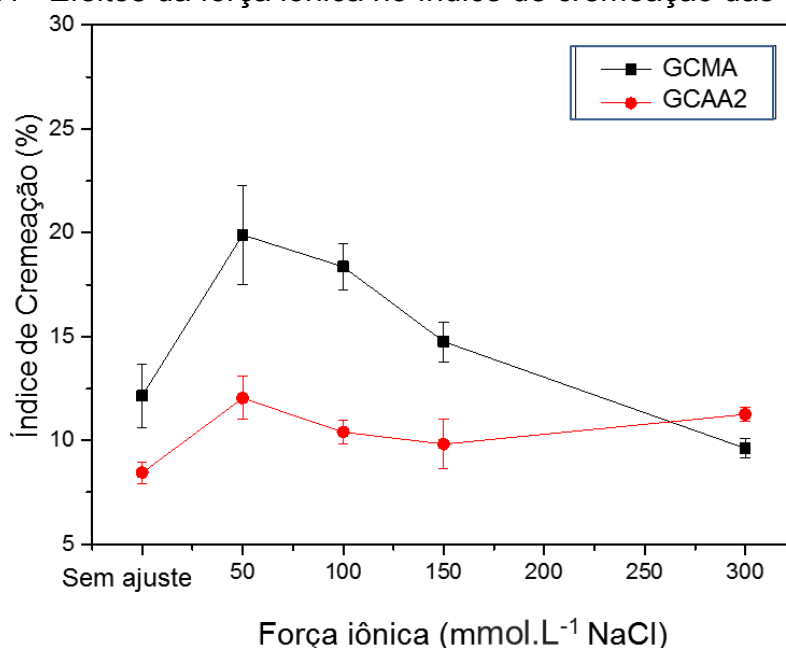
Em concordância com Mikulcová *et al.* (2018) e Wen *et al.* (2014) nas concentrações salinas maiores, acima de $FI=150 \text{ mmol.L}^{-1} \text{ NaCl}$, ambas formulações exibem uma relação de proporcionalidade com o incremento da concentração de sal no meio, em concordância com dados reportados previamente.

Ressalta-se que a força iônica da fase aquosa tem uma forte influência no potencial zeta que controla a repulsão eletrostática, influenciando assim a estabilidade das emulsões (RÍOS; PAZOS; COCA, 1998).

5.2.2.2.5. Índice de Cremação (Creaming)

O estudo da característica de “*creaming*” das emulsões em função da força iônica está representada na Figura 24:

Figura 24 - Efeitos da força iônica no índice de cremação das emulsões.



O “*creaming*” é um fenômeno de desestabilização física no qual as gotículas da emulsão tendem a sobrenadar em relação à fase contínua devido a diferença de densidades entre as fases componentes do sistema. Os valores obtidos nas formulações estudadas variaram na faixa de 8 – 20 %. A partir da análise dos da Figura 24, observa-se que o comportamento inicial do “*creaming*” das emulsões com GCMA e GCAA2 são semelhantes, aumentando com a força iônica, na faixa de $FI=$

0 - 50 mmol.L⁻¹. Os maiores valores de creaming são obtidos para as emulsões contendo GCMA com baixo GA.

Após FI=50 mmol.L⁻¹ NaCl as emulsões estabilizadas pelas nanopartículas dos derivados CGMA apresentam redução gradativa dos índices de creaming.

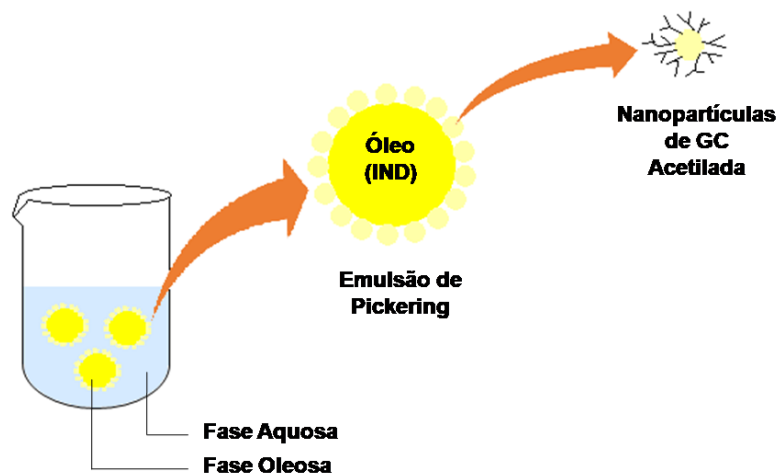
Para emulsões estabilizadas pelas nanopartículas de CGAA2 ressalta-se que as taxas são substancialmente menores que as apresentadas pelas emulsões de CGAc1 e após FI=50 mmol.L⁻¹ NaCl, ocorre uma redução inicial do índice que, em seguida, permanece sem diferença significativa para as demais concentrações salinas do meio, podendo assim, indicar uma certa estabilidade no “*creaming*” para estas formulações.

Mwangi *et al.* (2016) obtiveram índices que variaram de 30 a 60%, valores estes superiores aos apresentados neste trabalho, e observaram que inicialmente (sem ajuste - 200 mmol.L⁻¹ NaCl) os índices de creaming diminuem e permanecem estatisticamente iguais nas demais concentrações salinas do meio. Os autores atribuem a melhoria do “*creaming*” ao aumento da adsorção de partículas, devido à redução da repulsão eletrostática entre as partículas adsorvidas e não adsorvidas, o que pode ter resultado no aumento do filme interfacial. Ressalta-se que os valores obtidos indicam a baixa tendência dos sistemas no que se refere à separação de fases, conferindo estabilidade ao mesmo.

5.2.3 Emulsões de Pickering para incorporação de Indometacina (IND)

Para esta etapa foram elaboradas emulsões com ambos os derivados modificados, sem ajuste de força iônica do sistema e pH. A estrutura esperada para as emulsões de Pickering propostas neste trabalho está esquematicamente representada na Figura 25.

Figura 25 - Representação esquemática das emulsões de Pickering incorporadas com IND.



Fonte: Autor.

O esquema ilustra como é constituído o sistema proposto: as nanopartículas de GC acetilada estão adsorvidas na fase oleosa de indometacina, que por sua vez, também interage com a fase aquosa, estabilizando a emulsão de Pickering.

5.2.3.1 Distribuição de tamanho de partículas e potencial zeta

Nesta etapa do trabalho foram desenvolvidas emulsões de Pickering com os dois derivados (GCMA e GCAA2) nas razões polissacarídeo:fármaco de 1:1 e 1:1,5. Os valores referentes aos estudos das variáveis de tamanho das gotículas de emulsão, índice de polidispersividade e potencial zeta das emulsões aplicadas na incorporação de indometacina estão mostrados na Tabela 13:

Tabela 13 - Tamanho de partículas e potencial zeta das emulsões incorporadas com IND.

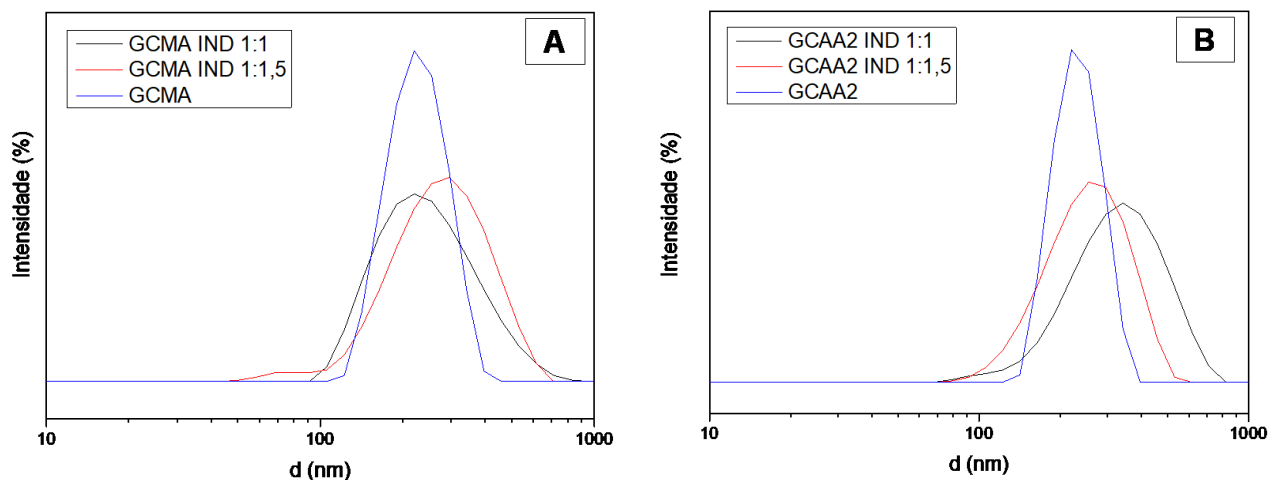
Derivado	Emulsão	Z (nm)	Índice de Polidispersividade (IPD)	ζ - Potential (mV)
GCMA	GCMA IND1:1	269 ± 6	0,345±0,02	-49±3
(T80t2Ac16, GA = 1,8)	GCMA IND 1:1,5	290±19	0,333±0,02	-53±2
GCAA2	GCAA2 IND1:1	312±13	0,447±0,04	-46±2
(T65t4Ac18, GA = 3)	GCAA2 IND1:1,5	270±11	0,320±0,07	-51±1

Fonte: Autor.

O encapsulamento resultou em tamanhos de partículas menores que as emulsões originais com GCMA e GCAA2, cujos tamanhos foram mostrados na Tabela 12, na faixa de força iônica investigada, para ambas as formulações. Tal efeito é atribuído à interação da IND com os grupos acetilas dos derivados, levando a estruturas mais compactas. Tal constatação já fora observada em outros trabalhos (CONSTANTIN *et al.*, 2017; LU *et al.*, 2017; PITOMBEIRA *et al.*, 2015). A comparação dos tamanhos obtidos para as matrizes de emulsão e para as emulsões incorporadas estão mostradas na Figura 26.

Após o encapsulamento, os dados obtidos mostram que a emulsão CGMA IND1:1 apresentou menor diâmetro das gotículas, menor índice de polidispersividade e tendência unimodal. Por outro lado, as emulsões estabilizadas pelas nanopartículas do derivado mais acetilado CGAA2 IND1:1 apresentaram maior tamanho e PDI, com tendência unimodal. Ressalta-se que, independente da hidrofobicidade do sistema de carregamento, a proporção entre polissacarídeo:fármaco utilizado nas formulações interfere diretamente nas interações hidrofóbicas entre as fases do sistema (KUSKOV *et al.*, 2017).

Figura 26 - Distribuição de tamanho das emulsões originais e emulsões incorporadas com IND.



No que se refere ao potencial zeta, as amostras estudadas não diferem estatisticamente entre si. Entretanto, a magnitude dos valores obtidos (> 30 mV) indicam que as formulações podem ser consideradas como sistemas coloidais estáveis (MOHANRAJ; CHEN., 2006; SILVA *et al.*, 2016).

Outros estudos reportam tamanhos de partícula inferiores a 250 nm, para diferentes matrizes e métodos utilizados para o carregamento de indometacina, sendo estes abordados na Tabela 14:

Tabela 14 - Tamanhos de partículas em diferentes sistemas de carreamento para IND.

Sistema de carreamento	Matriz	Tamanho obtido	Referência
Nanopartículas anfífilas	Goma de cajueiro acetilada	140 nm	Pitombeira <i>et al.</i> (2015).
	Poli-N-vinilpirrolidona	78 - 152 nm	Kuskov <i>et al.</i> (2017).
	Policaprolactona	220 - 245 nm	Badri <i>et al.</i> (2017).
Nanoemulsões	Diferentes fases oleosas, surfactantes e co-surfactantes (colesterol, óleo de oliva).	180 - 220 nm	Kwasigrosh <i>et al.</i> (2016).
	Eugenol e demais surfactantes e co-surfactantes	184 - 285 nm	Khayat <i>et al.</i> (2018).
Eletrofiação	Nanofibras de eudragit®	Aproximadamente 100 nm	Akhgari <i>et al.</i> (2017).
Conjugados	Oligossacarídeos de quitosana	Aproximadamente 100 nm	Lee <i>et al.</i> (2017).

Fonte: Autor.

Em contrapartida, em outros estudos foram obtidas partículas com tamanhos variáveis e bem superiores aos reportados neste trabalho: Constantin *et al.* (2017) apresentaram nanopartículas com tamanhos entre aproximadamente 214 a 1460 nm para sistemas com pululana enxertada com N-isopropilacrilamida, e atribuiu tal variação aos diferentes métodos empregados (nanoprecipitação e diálise), derivados e concentrações. Kalam *et al.* (2016) obtiveram nanopartículas de quitosana por geleificação iônica com diâmetros de 300 a 700 nm, em função do aumento da concentração polissacarídica e quantidade de reticulante.

Alguns estudos reportam a importância das características de tamanho de partículas em sistemas de carreamento de fármacos: Chang *et al.* (2013) afirmam que o de tamanho de partícula em sistemas nanoemulsionados influenciam nas propriedades funcionais do sistema proposto. Tajiri *et al.* (2015) relaciona o tamanho de partículas (sistemas sólidos) com suas propriedades de solubilidade e dispersão

e obtiveram que o percentual de liberação do princípio ativo é inversamente proporcional a este parâmetro.

5.2.3.2 Eficiência de encapsulamento de IND nas emulsões de Pickering

Os dados referentes às eficiências de encapsulamento das emulsões elaboradas constam na Tabela 15.

Tabela 15 - Encapsulamento de IND via emulsão de Pickering.

Emulsão	Eficiência de Encapsulamento (%)
GCMA IND1:1	25,06±2,04
GCMA IND1:1,5	30,80±7,16
GCAA2 IND1:1	40,09±1,09
GCAA2 IND1:1,5	52,17±5,87

Fonte: Autor.

De um modo geral foram obtidas emulsões com eficiências de encapsulamento entre aproximadamente 25 a 52%. As emulsões formuladas com o derivado GCAA2 na razão polímero:fármaco = 1:1.5 foram mais eficazes, o que provavelmente pode ser atribuído ao maior grau de acetilação do derivado precursor das nanopartículas de estabilização superficial da emulsão (3,06±0,21). Sabe-se que a alta substituição polissacarídica por grupos hidrofóbicos favorece as interações hidrofóbicas da matriz, conferindo à mesma maior potencial para carreamento de fármaco (LU *et al.*, 2011; PITOMBEIRA *et al.*, 2015; DIAS *et al.*, 2016).

Ressalta-se que a acetilação contribuiu para o aumento de propriedades emulsificantes, visto que a substituição em grupamentos acetila contribui para a redução da tensão superficial, promovendo uma melhoria das propriedades de superfície (LI *et al.*, 2016).

Indometacina tem sido encapsulada com diferentes matrizes, resultando em eficiências variadas. Alguns destes estudos constam na Tabela 16.

Tabela 16 - Eficiências de encapsulamento em diferentes sistemas de carregamento para IND.

Sistema de carregamento	Matriz	Eficiência de Encapsulamento (%)	Referência
Nanopartículas	Pululana enxertada com NIPA	36 - 58%	Constantin <i>et al.</i> (2017).
	Polivinilpirrolidona	19 - 35%	Kuskov <i>et al.</i> (2017).
	Policaprolactona	70 - 76%	Badri <i>et al.</i> (2017).
	Polietilenoimina ramificada	Aprox. 90%	Lu <i>et al.</i> (2017).
	Sílica Mesoporosa / Alginato	Aprox. 20%	Hu <i>et al.</i> (2014).
Nanoemulsão	Diferentes fases oleosas, surfactantes e co-surfactantes (colesterol, óleo de oliva).	92%	Kwasigrosh <i>et al.</i> (2016).
Nanolipossomos	Quitosana	Acima de 80%	Dalmoro <i>et al.</i> (2018).
Géis	Quitosana	59 - 81%	Kalam <i>et al.</i> (2016).
	Quitosana reticulada e β -ciclodextrina	42 - 84%	Anirudhan e Sandeep (2013)
Membranas	Alginato hidrofobizado	60 a 90%	Shi <i>et al.</i> (2012).

Fonte: Autor.

Sobre as matrizes reportadas observa-se que as eficiências são bastante variáveis, não sendo possível deduzir diretamente que tal característica é relacionada ao método/matriz empregado na incorporação do fármaco.

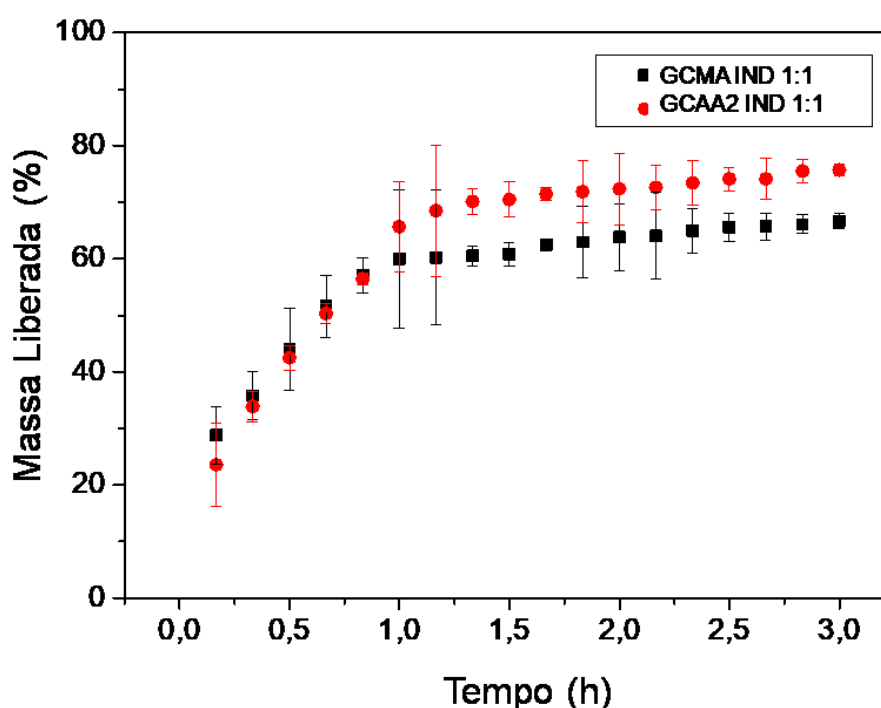
Os valores apresentados neste trabalho encontram-se em concordância com alguns dos artigos reportados. É possível atribuir ao fato que a IND possui uma carboxila com pKa de aproximadamente 4,5. Assim, o fármaco é capaz de atuar tanto como aceptor de ligação de hidrogênio, através da carbonila, quanto como doador de ligação de hidrogênio através da hidroxila. A goma de cajueiro acetilada também pode atuar como doadora e aceptor, logo, estas espécies podem interagir

por ligação de hidrogênio (host-guest), interações eletrostáticas, além das interações hidrofóbicas envolvidas (LU *et al.*, 2017).

5.2.3.3 Perfil de liberação das emulsões incorporadas com IND

O perfil de liberação das emulsões GCMA IND1:1 e GCAA2 IND1:1 está representado na Figura 27.

Figura 27 - Perfil de liberação de IND *in vitro*.



Até o tempo de aproximadamente 1 h as duas formulações propostas apresentaram comportamentos semelhantes, não havendo diferença significativa entre as amostras. Entretanto, após 1,5 h, foi observado que a emulsão CGAc1IND1:1 apresentou máximo de liberação de 75%, taxa superior à evidenciada na emulsão CGAc2IND1:1, que liberou neste mesmo tempo aproximadamente 66% do fármaco contido na composição.

Diante dos dados apresentados é possível evidenciar que a emulsão composta pelo derivado de menor grau de substituição apresenta maior índice de liberação, corroborado por outros relatos presentes na literatura (PITOMBEIRA *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2012; SHI *et al.*, 2012; LU *et al.*, 2011) onde é afirmado que, matrizes aplicadas para carreamento de princípios ativos hidrofóbicos, um alto grau

de substituição leva a uma menor taxa de liberação. Fato que pode ser atribuído ao efeito das interações hidrofóbicas entre a GC acetilada e a IND.

No que se concerne ao tempo para a liberação máxima da indometacina nas emulsões deste estudo foi obtido um perfil de liberação rápida, observa-se que tal característica é bem distinta quando comparada às matrizes anteriormente estudadas. No entanto, Akhgari *et al.* (2017) apresentaram liberação máxima de 100% de IND em 2 h em nanofibras de eudragit®, os autores afirmam que a razão polímero : princípio ativo tem influência direta no perfil, e este valor foi obtida em proporção 1:1, semelhante à aplicada neste trabalho.

Outra observação relevante é que dentre as que tiveram seus perfis de liberação *in vitro* estudadas a emulsão GCMA IND1:1 obteve maior percentual de IND liberado, sendo esta a que apresentou menor tamanho de partícula, evidenciando que a tais características foram inversamente proporcionais (TAJIRI *et al.*, 2015).

Na literatura há diferentes padrões de liberação em detrimento à variedade de matrizes e metodologias estudadas para a incorporação de indometacina, dentre estas: Constantin *et al.* (2017) obtiveram liberação de 85% em aproximadamente 6 h para matriz nanoparticulada de pululana enxertada com NIPA, Kalam *et al.* (2016) observaram padrão bifásico na liberação com índice de aproximadamente 30 a 50% do princípio ativo na primeira hora e 70% após 14 h para gel obtido com quitosana reticulada, Dalmoro *et al.* (2018) obtiveram liberação de aproximadamente 61 a 76% liberados após 270 min. Tajiri *et al.* (2015) estudaram matrizes de dispersão sólida de IND em etilcelulose que apresentaram liberação de 40 a 55% após 6 h.

Desta forma, o perfil relatado possibilita maior biodisponibilidade da indometacina em pH 7,4 em menor intervalo de tempo, quando comparado aos sistemas propostos na literatura, podendo constituir uma opção de formulação para tratamentos de sintomas agudos.

5.2.4 Conclusão parcial

Os derivados acetilados diferentemente substituídos (média e alta acetilação - GCMA e GCAA1) possibilitaram a elaboração de nanopartículas

incorporadas com anfotericina B, com razoáveis características de encapsulamento e liberação

Foram obtidas emulsões de Pickering com os dois derivados obtidos (GCMA e GCAA2) em diferentes níveis de concentração e força iônica do sistema. A força iônica afetou diretamente as emulsões no que se refere ao tamanho, estabilidade de estoque, potencial zeta e “*creaming*”.

As condições selecionadas para a associação de indometacina via emulsão de Pickering permitiram a obtenção de sistemas com boas condições de aprisionamento do fármaco (de 25 a 52% de eficiência) e liberação de 63 a 72% do princípio ativo em 2,5 h, fornecendo um bom sistema de liberação rápida, com partículas de tamanhos entre aproximadamente 270 e 312 nm e potenciais zeta inferiores a -40 mV. Assim, as formulações propostas apresentam boas características de estabilidade coloidal, possibilitando inúmeras aplicações no âmbito farmacêutico na elaboração de sistemas de carreamento de fármacos hidrofóbicos.

Em perspectiva, as nanopartículas apresentaram-se mais eficientes no carreamento da AmB. As nanopartículas e emulsões mostraram percentuais de liberação análogos, no entanto, as emulsões o fizeram em tempo substancialmente menor.

Com relação à liberação, tempos menores podem ser mais vantajosos para fármacos de liberação rápida, no entanto, a escolha do método com base na liberação depende da aplicação proposta.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A goma de cajueiro foi acetilada com anidrido acético com sucesso através de uma via verde, uma reação catalisada por ácido sulfúrico, por uma metodologia que não requer o uso de solventes orgânicos tóxicos.

A análise estatística por ANOVA e Regressão Linear mostrou que o rendimento reacional e o grau de acetilação foram afetados pela temperatura e pela interação entre o tempo de reação e a quantidade de reagente de acetilação. Dentro das condições estudadas, foram obtidos produtos com características variáveis. A reação com produto T80t6Ac08 destacou-se por apresentar rendimento de aproximadamente 93% e grau de acetilação 2,4 e o ponto de extrapolação T65t4Ac12 obteve rendimento de 97% e grau de acetilação 3.

Os derivados hidrofobizados de goma de cajueiro com diferentes graus de substituição polissacarídica possibilitaram a elaboração de nanopartículas auto-organizadas por diálise e nanoprecipitação, bem como a formação de diferentes emulsões de Pickering. Os sistemas obtidos pelos métodos descritos apresentaram potencial para o carregamento de princípios ativos hidrofóbicos.

Os sistemas auto-organizados incorporados com Anfotericina B apresentaram eficiência de encapsulamento de 73,42%, resultando em liberação prolongada até 72 h. Desta forma, pode-se inferir que as nanopartículas auto-organizadas de CG acetiladas provaram ser uma matriz eficiente para o encapsulamento deste fármaco.

Conforme esperado as propriedades de tamanho de gotícula, potencial zeta e creaming das emulsões elaboradas foram influenciadas pelo diferente grau de modificação polissacarídica e pela variação da força iônica do sistema. O estudo da incorporação de indometacina mostrou que ambos os derivados acetilados propiciaram a elaboração de emulsões com nível de encapsulamento satisfatório, ressaltando que as emulsões estabilizadas com o derivado mais acetilado GCAA2 resultaram em composições com eficiência máxima de aproximadamente 50%. No que se refere ao perfil de liberação de indometacina, a emulsão composta pelas nanopartículas formadas pelo derivado de média acetilação apresentou taxa de aproximadamente 75% do fármaco encapsulado em 1,5 h, valor este superior ao obtido por GCAA2 no mesmo tempo de estudo (aproximadamente 66%) em

decorrência das interações hidrofóbicas mais fortes entre a matriz e o fármaco. Ambas as formulações estudadas em presença de indometacina apresentaram tamanhos de partícula, índice de polidispersividade e potencial zeta compatíveis com dados já constantes na literatura e condizentes com as características de sistemas coloidais estáveis.

Diante do exposto, os derivados acetilados de goma de cajueiro possibilitaram a elaboração de diferentes sistemas de carreamento de fármacos hidrofóbicos, os quais constituem uma alternativa promissora para a incorporação de anfotericina B e indometacina, podendo se estender a outros princípios ativos hidrofóbicos.

REFERÊNCIAS

- ABREU, F. O. M. S. *et al.* Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 89, n. 4, p. 1277–1282, aug. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.048>. Acesso em: 26 maio 2019.
- ABREU, C. M. W. S. *et al.* Synthesis and characterization of non-toxic and thermo-sensitive poly(N-isopropylacrylamide)-grafted cashew gum nanoparticles as a potential epirubicin delivery matrix. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 154, p. 77–85, dec. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.031>. Acesso em: 26 maio 2019.
- AKHGARI, A. *et al.* Indomethacin electrospun nanofibers for colonic drug delivery: In vitro dissolution studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 152, p. 29–35, apr. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.12.035>. Acesso em: 26 maio 2019.
- ALANGE, V. V.; BIRAJDAR, R. P.; KULKARNI, R. V. Novel spray dried pH-sensitive polyacrylamide- *grafted* -carboxymethylcellulose sodium copolymer microspheres for colon targeted delivery of an anti-cancer drug. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [s.l.], v. 28, n. 2, p. 139-161, nov. 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09205063.2016.1257083>. Acesso em: 26 maio 2019.
- AMIDON, G. L. *et al.* A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *in Vitro* Drug Product Dissolution and *in Vivo* Bioavailability. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 12, n. 3 p. 413-420, mar. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1016212804288>. Acesso em: 26 maio 2019.
- ANIRUDHAN, T. S.; DILU, D.; SANDEEP, S. Synthesis and characterisation of chitosan crosslinked- β -cyclodextrin grafted silylated magnetic nanoparticles for controlled release of Indomethacin. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, [s.l.], v. 343, p. 149-156, oct. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2013.04.007>. Acesso em: 26 maio 2019.
- ARAÚJO, I. M. S. *et al.* Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. **Materials Science and Engineering C**, [s.l.], v. 32, n. 6, p. 1588-1593, aug. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.04.048>. Acesso em: 26 maio 2019.
- AVEYARD, R.; BINKS, B. P.; CLINT, J. H. Emulsions stabilised solely by colloidal particles. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], v. 100–102, p. 503-546, feb. 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00069-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00069-6). Acesso em: 26 maio 2019.

BADRI, W. *et al.* Polycaprolactone Based Nanoparticles Loaded with Indomethacin for Anti-Inflammatory Therapy: From Preparation to Ex Vivo Study. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 34, n. 9, p. 1773–1783, may, 2017.

BINKS, B. P.; LUMSDON, S. O. Pickering emulsions stabilized by monodisperse latex particles: effects of particle size. **Langmuir**, [s.l.], v.17, n. 15, p. 4540–4547, jun. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/la0103822>. Acesso em: 26 maio 2019.

BINKS, B. P.; PHILIP, J.; RODRIGUES, J. A. Inversion of Silica-Stabilized Emulsions Induced by Particle Concentration. **Langmuir**, [s.l.], v. 21, n. 8, p. 3296–3302, mar. 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/la046915z>. Acesso em: 26 maio 2019.

BLIJDENSTEIN, T. B. J. *et al.* Scaling behavior of delayed demixing, rheology, and microstructure of emulsions flocculated by depletion and bridging. **Langmuir**, [s.l.], v. 20, n. 26, 11321–11328, nov. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/la048608z>. Acesso em: 26 maio 2019.

BORAZJANI, N. J. *et al.* Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 101, p. 703–711, aug. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016329087>. Acesso em: 26 maio 2019.

BOTREL, D. A. *et al.* Application of cashew tree gum on the production and stability of spray-dried fish oil. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 221, p. 1522–1529, apr. 2017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616318210>. Acesso em: 26 maio 2019.

BOUYER, E. *et al.* Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 436, n. 1–2, p. 359–378, oct. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.052>. Acesso em: 26 maio 2019.

CAI, L. *et al.* Advances in glycosylation-mediated cancer-targeted drug delivery. **Drug Discovery Today**, [s.l.], v. 23, n. 5, p. 1126–1138, may, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.02.009>. Acesso em: 26 maio 2019.

CALVO, P.; REMUÑAN-LÓPEZ, J. L.; ALONSO, M. J. Development of positively charged colloidal drugs carriers: Chitosan-coated polyester nanocapsules and submicron-emulsions. **Colloid and Polymer Science**, [s.l.], v. 275, n. 1, p. 46–53, jan. 1997.

CAMPOS, D.A. *et al.* Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 90, n. 1, p. 270–274, sep. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.034>. Acesso em: 26 maio 2019.

CASA, D. M. *et al.* Poly(L-lactide) Nanoparticles Reduce Amphotericin B Cytotoxicity and Maintain Its In Vitro Antifungal Activity. **Journal Of Nanoscience And Nanotechnology**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 848-854, jan. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2015.9177>. Acesso em: 26 maio 2019.

CHANG, Y. *et al.* Characterization of amylose nanoparticles prepared via nanoprecipitation: Influence of chain length distribution. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 194, n. 15, p. 154-160, aug. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.104>. Acesso em: 26 maio 2019.

CHEN, Y. *et al.* Sulfated modification of the polysaccharides from *Ganoderma atrum* and their antioxidant and immunomodulating activities. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 186, p. 231–238, nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.032>. Acesso em: 26 maio 2019.

CHEN, C. *et al.* The effect of chitosan on the flammability and thermal stability of polylactic acid/ammonium polyphosphate biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 157, p. 1586-1593, fev. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.035>. Acesso em: 26 maio 2019.

CHEN, H.; ZHONG, Q. A novel method of preparing stable zein nanoparticle dispersions for encapsulation of peppermint oil. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 43, p. 593-602, jan. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.018>. Acesso em: 26 maio 2019.

CHEVALIER, Y.; BOLZINGER, M. A. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 439, p. 23–34, dec. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>. Acesso em: 26 maio 2019.

CHIVERO, P. *et al.* Assessment of soy soluble polysaccharide, gum arabic and OSA-Starch as emulsifiers for mayonnaise-like emulsions. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 69, p. 59-66, jun. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.064>. Acesso em: 26 maio 2019.

CONSTANTIN, M. *et al.* Smart nanoparticles based on pullulan-g-poly(N-isopropylacrylamide) for controlled delivery of indomethacin: Paper dedicated to the 150th anniversary of the Romanian Academy. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 94, p. 698-708, jan. 2017.

COLUSSI, R. *et al.* LWT - Food Science and Technology Acetylation of rice starch in an aqueous medium for use in food. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 62, n. 2, p. 1076–1082, jul. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.053>. Acesso em: 26 maio 2019.

COSTA, S. M. O.; RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. Monitorização do processo de purificação de gomas naturais: Goma do Cajueiro. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, [s.l.], Abr/Jun, p. 49–55, 1996.

CUNHA, P. L. R. *et al.* Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 85-92, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532007000100009>. Acesso em: 26 maio 2019.

CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 649-660, 2009.

DAI, L. *et al.* Characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/gum arabic complex colloidal nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 74, p. 239–248, jan. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.040>. Acesso em: 26 maio 2019.

DALMORO, A. *et al.* Polymer-lipid hybrid nanoparticles as enhanced indomethacin delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 121, p. 16–28, aug. 2018.

DAMMAK, I.; SOBRAL, P. J. A. Formulation optimization of lecithin-enhanced pickering emulsions stabilized by chitosan nanoparticles for hesperidin encapsulation. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 229, p. 2–11, jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.001>. Acesso em: 26 maio 2019.

DAS, B.; NAYAK, A. K.; NANDA, U. Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: Preparation and in vitro skin permeation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 62, p. 514–517, nov. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.049>. Acesso em: 26 maio 2019.

DAUDT, R. M. *et al.* A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v.65, n.3, p. 28-31, jul. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252013000300011>. Acesso em: 26 maio 2019.

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, n. 3, p. 177–181, 1995.

DE PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. **Polymer International**, [s.l.], v. 45, n. 1, p. 27–35, mar. 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0126\(199801\)45:1<27::AID-PI900>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0126(199801)45:1<27::AID-PI900>3.0.CO;2-9). Acesso em: 26 maio 2019.

DESTREBATS, M. *et al.* Emulsions stabilised by whey protein microgel particles: towards food-grade Pickering emulsions. **Soft Matter**, [s.l.], v. 10, n. 36, p. 6941–6954, 2014. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4SM00179F>. Acesso em: 26 maio 2019.

DIAS, S. F. L. *et al.* Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 143, p. 254–261, jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.004>. Acesso em: 26 maio 2019.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 23, n. 6, p. 1473–1482, aug. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005>. Acesso em: 26 maio 2019.

DOLZ, M. *et al.* Influence of xanthan gum and locust bean gum upon flow and thixotropic behaviour of food emulsions containing modified starch. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 81, n. 1, p. 179–186, jul. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.020>. Acesso em: 26 maio 2019.

ELOMAA, M. Determination of the degree of substitution of acetylated starch by hydrolysis, ¹H NMR and TGA/IR. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 57, n. 3, p. 261–267, set. 2004. Disponível em: [http://api.elsevier.com/content/article/PII:S01448617\(04\)001444?httpAccept=text/xml](http://api.elsevier.com/content/article/PII:S01448617(04)001444?httpAccept=text/xml). Acesso em: 19 jan. 2016.

FAGERHOLM, U. Evaluation and suggested improvements of the Biopharmaceutics Classification System (BCS). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s.l.], v. 59, n. 6, p. 751–757, fev. 2010. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1211/jpp.59.6.0001>. Acesso em: 19 jan. 2016.

FEUER, B. I. Method of making starch acetate using an acid catalyst. **USA Patent nº5.710.269**. 1998.

FENG, Y.; LEE, Y. Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilize oil-in-water pickering emulsion. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 56, p. 292–302, may 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.030>. Acesso em: 19 jan. 2016.

FORATO, L. A. *et al.* Effect of cashew gum-carboxymethylcellulose edible coatings in extending the shelf-life of fresh and cut guavas. **Food Packaging and Shelf Life**, [s.l.], v. 5, p. 68–74, sep. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.06.001>. Acesso em: 19 jan. 2016.

FESSI, H. *et al.* Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. R1–R4, oct. 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(89\)90281-0](https://doi.org/10.1016/0378-5173(89)90281-0). Acesso em: 26 maio 2019.

FOX, C. B. *et al.* Micro/nanofabricated platforms for oral drug delivery. **Journal of Controlled Release**, [s.l.], v. 219, p. 431–444, dec. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.07.033>. Acesso em: 26 maio 2019.

GAMAL-ELDEEN, A. M. *et al.* Chemically-modified polysaccharide extract derived from *Leucaena leucocephala* alters Raw 264.7 murine macrophage functions. **International Immunopharmacology**, [s.l.], v. 7, n. 6, p. 871-878, jun. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.02.002>. Acesso em: 26 maio 2019.

GAVORY, C. *et al.* Polysaccharide-covered nanoparticles prepared by nanoprecipitation. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 84, n. 1, p. 133–140, feb. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.012>. Acesso em: 26 maio 2019.

GE, S. *et al.* Characterizations of Pickering emulsions stabilized by starch nanoparticles: Influence of starch variety and particle size. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 234, p. 339–347, nov. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.150>. Acesso em: 26 maio 2019.

GONG, X.; WANG, Y.; CHEN, L. Enhanced emulsifying properties of wood-based cellulose nanocrystals as Pickering emulsion stabilizer. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 169, p. 295–303, aug. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.024>. Acesso em: 26 maio 2019.

GHOSH, S. K. *et al.* Semi-interpenetrating hydrogels from carboxymethyl guar gum and gelatin for ciprofloxacin sustained release. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 120, p. 1823–1833, dec. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.212>. Acesso em: 26 maio 2019.

HALPERIN, A. *et al.* Novel Water-Soluble Amphotericin B-PEG Conjugates with Low Toxicity and Potent in Vivo Efficacy. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 59, n. 3, p. 1197-1206, 2016.

HAMILL, R. J. Amphotericin B Formulations: A Comparative Review of Efficacy and Toxicity. **Drugs**, [s.l.], v. 73, n. 9, p.919-934, jun. 2013.

HAO, L.; WANG, C.; TONG, Z. Nanocomposite polysaccharide microcapsules fabricated through layer-by-layer assembly based on a Pickering emulsion template. **Journal of Controlled Release**, [s.l.], v. 172, n. 1, p. e19, nov. 2013. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365913005154>. Acesso em: 26 maio 2019.

HEMVICHIAN, K.; CHANTHAWONG, A.; SUWANMALA, P. Synthesis and characterization of superabsorbent polymer prepared by radiation-induced graft copolymerization of acrylamide onto carboxymethyl cellulose for controlled release of agrochemicals. **Radiation Physics and Chemistry**, [s.l.], v. 103, p. 167–171, oct. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.05.064>. Acesso em: 26 maio 2019.

HERCULANO, E. D. *et al.* Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated Eucalyptus staigeriana essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 61, n. 2, p. 484-491, may 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.001>. Acesso em: 26 maio 2019.

HERNÁNDEZ-CARMONA, G.; FREILE-PELEGRÍN, Y.; HERNÁNDEZ-GARIBAY, E. Conventional and alternative technologies for the extraction of algal polysaccharides. **Functional Ingredients From Algae For Foods And Nutraceuticals**, [s.l.], p. 475-516, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1533/9780857098689.3.475>. Acesso em: 26 maio 2019.

HEYDAR, S. *et al.* International Journal of Biological Macromolecules Preparation and characterization of acetylated starch nanoparticles as drug carrier: Ciprofloxacin as a model. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 87, p. 48–54, jun. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.030>. Acesso em: 26 maio 2019.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle. **Nature**, [s.l.], v. 152, n. 3847 p. 102-103, jul. 1943.

HU, Y. Q. *et al.* Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 61, p. 300–310, dec. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.028>. Acesso em: 26 maio 2019.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2016**. Rio de Janeiro, IBGE:2016. Disponível em: <http://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>. Acesso em: 26 maio 2019.

JIANG, A. K. Solubilisation of Indomethacin using hydrotropes for aqueous injection. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 68, n. 3, p. 701-714, mar. 2008.

JUNG, S. W.; JEONG-IL, Y.; KIM, S. H. Characterization of hydrophobized pullulan with various hydrophobicities. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 254, n. 2, p. 109–121, mar. 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00006-1). Acesso em: 26 maio 2019.

KALAM, A. M. *et al.* Optimizing indomethacin-loaded chitosan nanoparticle size, encapsulation, and release using Box-Behnken experimental design. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 87, p. 329–340, jun. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.033>. Acesso em: 26 maio 2019.

KATOUZIAN, I.; JAFARI, S. M. Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. **Trends In Food Science & Technology**, [s.l.], v. 53, p. 34-48, jul. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.002>. Acesso em: 26 maio 2019.

KEMAS, C. U. *et al.* Starch-based xerogels: Effect of acetylation on Physicochemical and rheological properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 98, p. 94–102, may 2017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016312417>. Acesso em: 26 maio 2019.

KHAYAT, N. W. E. *et al.* Optimization of eugenol microemulsion for transdermal delivery of indomethacin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 48, p. 311-318, dec. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.10.006>. Acesso em: 26 maio 2019.

KHAN, A. A. *et al.* Antifungal efficacy of amphotericin B encapsulated fibrin microsphere for treating *Cryptococcus neoformans* infection in Swiss albino mice. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 20, n. 4, p. 342–348, jul-aug. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2016.04.006>. Acesso em: 26 maio 2019.

KIM, S. J.; FLACH, A. J.; JAMPOL, L. M. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in ophthalmology. **Survey of Ophthalmology**, [s.l.], v. 55, n. 2, p. 108–133, mar. 2010.

KONG, S. *et al.* Magnetic field activated lipid-polymer hybrid nanoparticles for stimuli-responsive drug release. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 9, n. 3, p. 5447–5452, mar. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2012.11.006>. Acesso em: 26 maio 2019.

KREUTER, J. **Nanoparticles**. In: Kreuter, J. editor. Colloidal drug delivery systems. v. 66. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 219–342.

KRUIJFF, B. *et al.* Polyene antibiotic-sterol interactions in membranes of *Acholeplasma laidlawii* cells and lecithin liposomes. I. Specificity of the membrane permeability changes induced by the polyene antibiotics. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Biomembranes**, [s.l.], v. 339, n. 1, p.30-43, feb. 1974. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0005-2736\(74\)90330-7](http://dx.doi.org/10.1016/0005-2736(74)90330-7). Acesso em: 26 maio 2019.

KUMAR, A. *et al.* Cashew Gum A Versatile Hydrophilic Polymer: A Review. **Current Drug Therapy**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 2–12, mar. 2012.

KUMAR, S. *et al.* Shape and size-dependent immune response to antigen-carrying nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, [s.l.], v. 220, p. 141–148, dec. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.09.069>. Acesso em: 26 maio 2019.

KUSKOV, A. N. *et al.* Amphiphilic poly-N-vinylpyrrolidone nanoparticles as carriers for non-steroidal, anti-inflammatory drugs: In vitro cytotoxicity and in vivo acute toxicity study. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [s.l.], v. 13, n. 3, p. 1021–1030, Apr. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2016.11.006>. Acesso em: 26 maio 2019.

KWASIGROCH, B. *et al.* Oil-in-water nanoemulsions are suitable for carrying hydrophobic compounds: Indomethacin as a model of anti-inflammatory drug. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 515, n. 1–2, p. 749–756, dec. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.11.016>. Acesso em: 26 maio 2019.

LAM, S.; VELIKOV, K. P.; VELEV, O. D. Pickering stabilization of foams and emulsions with particles of biological origin. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, [s.l.], v. 19, n. 5, p. 490–500, oct. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2014.07.003>. Acesso em: 26 maio 2019.

LANIADO-LABORÍN, R.; CABRALES-VARGAS, M. N. Amphotericin B: side effects and toxicity. **Revista Iberoamericana de Micología**, [s.l.], v. 26, n. 4, p. 223–227, dec. 2009. Disponível em: <http://www.reviberoammicol.com/2009-26/223227.pdf>. Acesso em: 26 maio 2019.

LAREDJ-BOUREZG, F. *et al.* Pickering emulsions stabilized by biodegradable block copolymer micelles for controlled topical drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 531, n. 1, p. 134–142, oct. 2017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037851731730772X>. Acesso em: 26 maio 2019.

LEE, W. K. *et al.* Agar properties of Gracilaria species (Gracilariaceae, Rhodophyta) collected from different natural habitats in Malaysia. **Regional Studies in Marine Science**, [s.l.], v. 7, p. 123–128, sep. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rsma.2016.06.001>. Acesso em: 26 maio 2019.

LEE, J. Y. *et al.* Chemosensitizing indomethacin-conjugated chitosan oligosaccharide nanoparticles for tumor-targeted drug delivery. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 57, p. 262–273, jul. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.012>. Acesso em: 26 maio 2019.

LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s.l.], v. 57, n. 3, p. 273–285, feb. 2010. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1211/0022357055263>. Acesso em: 26 maio 2019.

LETCHFORD, K.; BURT, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutic**, [s.l.], v. 65, n. 3, p. 259–269, mar. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.11.009>. Acesso em: 26 maio 2019.

LI, J. *et al.* Effects of acetylation on the emulsifying properties of Artemisia sphaerocephala Krasch. polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 144, p. 531–540, jun. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.039>. Acesso em: 26 maio 2019.

LI, Z. *et al.* Stability mechanism of O/W Pickering emulsions stabilized with regenerated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 181, p. 224–233, feb. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.080>. Acesso em: 26 maio 2019.

LIANG, J. *et al.* Encapsulation of epigallocatechin gallate in zein/chitosan nanoparticles for controlled applications in food systems. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 231, p. 19–24, sep. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.106>. Acesso em: 26 maio 2019.

LIU, F.; TANG, C. H. Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. II. Improvement of emulsification and interfacial adsorption by electrostatic screening. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 60, p. 620–630, oct. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.024>. Acesso em: 26 maio 2019.

LIMA, M. R. *et al.* Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin B encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 108, p. 523–530, mar. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.047>. Acesso em: 26 maio 2019.

LIU, P. *et al.* Konjac glucomannan supported palladium complex: An efficient and recyclable catalyst for Heck reaction. **Reactive And Functional Polymers**, [s.l.], v. 68, n. 1, p.384–388, jan. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2007.07.031>. Acesso em: 26 maio 2019.

LUO, Z. *et al.* Effects of pH on the ability of flavonoids to act as Pickering emulsion stabilizers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 92, p. 84–90, apr. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.11.027>. Acesso em: 26 maio 2019.

LU, H. *et al.* Preparation and properties of new micellar drug carriers based on hydrophobically modified amylopectin. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 83, p. 1499–1506, feb. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.09.061>. Acesso em: 26 maio 2019.

LU, C. *et al.* Poly(ϵ -benzyloxycarbonyl-L-lysine)-grafted branched polyethylenimine as efficient nanocarriers for indomethacin with enhanced oral bioavailability and anti-inflammatory efficacy. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 49, p. 434–443, feb. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.038>. Acesso em: 26 maio 2019.

LU, X.; XIAO, J. Pickering emulsions stabilized by media-milled starch particles. **Food Research International**, [s.l.], v. 105, p. 140–149, mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.006>. Acesso em: 26 maio 2019.

MACHERAS, P.; KARALIS, V. A non-binary biopharmaceutical classification of drugs: The AB Γ system. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 464, n. 1–2, p. 85–90, apr. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.01.022>. Acesso em: 26 maio 2019.

MACIEL, J. S. *et al.* Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex : synthesis and thermal stability. *European polymer journal*, [s.l.], v. 41, n. 11, p. 2726–2733, nov. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.05.009>. Acesso em: 26 maio 2019.

MANZOCCO, L. *et al.* Exploitation of κ -carrageenan aerogels as template for edible oleogel preparation. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 71, p. 68–75, oct. 2017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X17303363>. Acesso em: 26 maio 2019.

MARCANO, V. R. G. del J. *et al.* Chitosan functionalized poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles for amphotericin B delivery. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 202, p. 345–354, dec. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.142>. Acesso em: 26 maio 2019.

MARTO, J. *et al.* Starch-based Pickering emulsions for topical drug delivery: A QbD approach. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 135, p. 183–192, nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.07.024>. Acesso em: 26 maio 2019.

MCCLEMENTS, D. J. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 14, n. 2, p. 173–177, mar. 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(99\)00065-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00065-X). Acesso em: 26 maio 2019.

MENDES, A. C. *et al.* Fabrication of phospholipid-xanthan microcapsules by combining microfluidics with self-assembly. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 9, n. 5, p. 6675–6685, may, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.01.035>. Acesso em: 26 maio 2019.

MENESTRINA, J. M. *et al.* Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide structures in gum exudate of *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 47, n. 5, p. 715–721, mar. 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00666-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00666-3). Acesso em: 26 maio 2019.

MIKULCOVÀ, V. *et al.* Pickering oil-in-water emulsions stabilized by carboxylated cellulose nanocrystals – Effect of the pH. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 80, p. 60–67, jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.034>. Acesso em: 26 maio 2019.

MOEN, M. D.; LYSENG-WILLIAMSON, K. A.; SCOTT, L. J. Liposomal Amphotericin B. **Drugs**, [s.l.], v. 69, n. 3, p. 361–392, feb. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2165/00003495-200969030-00010>. Acesso em: 26 maio 2019.

MOKHTARI, S.; JAFARI, S. M.; ASSADPOUR, E. Development of a nutraceutical nano-delivery system through emulsification/internal gelation of alginate. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 229, p. 286–295, aug. 2017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617302728>. Acesso em: 26 maio 2019.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles - A review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 561–573, jun. 2006. Disponível em: <http://www.bioline.org.br/pdf?pr06007>. Acesso em: 26 maio 2019.

MOON, S.; YANG, S. G.; NA, K. An acetylated polysaccharide-PTFE membrane-covered stent for the delivery of gemcitabine for treatment of gastrointestinal cancer and related stenosis. **Biomaterials**, [s.l.], v. 32, n. 14, p. 3603–3610, may 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.070>. Acesso em: 26 maio 2019.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 385, n. 1-2, p. 113-142, jan. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.10.018>. Acesso em: 26 maio 2019.

MOTHÉ, C. G.; CORREIA, D. Z. Caracterização reológica de blendas de gomas cajueiro e xantana em suco [Rheological characterization of blends of cashew and xanthan gum juice]. **Analytica**, [s.l.], v. 1, p. 59-64, jan. 2002.

MOURA NETO, É. *et al.* Preparation and characterization of a chemically sulfated cashew gum polysaccharide. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 22, n. 10, p. 1953-1960, out. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532011001000017>. Acesso em: 26 maio 2019.

MULJANA, H. *et al.* Green starch conversions: Studies on starch acetylation in densified CO₂. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 82, n. 3, p. 653–662, oct. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.032>. Acesso em: 26 maio 2019.

MUTALIYEVA, B. *et al.* Microencapsulation of insulin and its release using w/o/w double emulsion method. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 521, p. 147–152, may 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.10.041>. Acesso em: 26 maio 2019.

MWANGI, W. W. *et al.* Food Hydrocolloids Effects of environmental factors on the physical stability of pickering-emulsions stabilized by chitosan particles. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 60, p. 543–550, oct. 2016.

NAN, F. *et al.* Uniform chitosan-coated alginate particles as emulsifiers for preparation of stable Pickering emulsions with stimulus dependence. **Colloids and Surface A**. [s.l.], v. 456, p. 246-252, aug. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.05.017>. Acesso em: 26 maio 2019.

NISHI, K. K. *et al.* Amphotericin B-Gum Arabic Conjugates: Synthesis, Toxicity, Bioavailability, and Activities Against Leishmania and Fungi. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 24, n. 5, p. 971-980, may 2007.

OKUNLOLA, A.; ADEBAYO, A. S.; ADEYEYE, M. C. Development of repaglinide microspheres using novel acetylated starches of bitter and Chinese yams as polymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 94, p. 544–553, jan. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.032>. Acesso em: 26 maio 2019.

OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation.

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, [s.l.], v. 113, p. 146–151, jan. 2014.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.038>. Acesso em: 26 maio 2019.

OUERGHEMMI, S. *et al.* Triclosan loaded electrospun nanofibers based on a cyclodextrin polymer and chitosan polyelectrolyte complex.

International Journal of Pharmaceutics, [s.l.], v. 513, n. 1–2, p. 483–495, nov. 2016. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.060>. Acesso em: 26 maio 2019.

OZIN, G. A. *et al.* Nanofabrication by self-assembly. **Materials Today**, [s.l.], v. 12, n. 5, p. 12–23, may 2009. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021\(09\)70156-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021(09)70156-7).

Acesso em: 26 maio 2019.

PAESE, C.; CATEN, C. T.; RIBEIRO, J. L. D. Aplicação da análise de variância na implantação do CEP. **Production**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 17-26, jan/jun. 2001.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-65132001000100002>. Acesso em: 26 maio 2019.

PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N. S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 201, n. 2, p. 131–150, may 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(00\)00344-6](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00344-6).

Acesso em: 26 maio 2019.

Panorama da Cajucultura no Ceará. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_02_09_14_35_39_cajucultura_no_ceara_-_2017.pdf. Acesso em: 26 maio 2019.

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, n. 10, p. 1953–1960, oct. 2011.

PARENTE, J. I. G.; OLIVEIRA, V. H. **Manejo da cultura do cajueiro**. In: ARAÚJO, J. P. P.; SILVA, V. V. (Org.). *Cajucultura: modernas técnicas de produção*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1995, p. 203-247.

PARK, W. *et al.* Cancer cell specific targeting of nanogels from acetylated hyaluronic acid with low molecular weight. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 40, n. 4, p. 367-375, jul. 2010. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2010.04.008>. Acesso em: 26 maio 2019.

PATEL, S.; GOYAL, A. Applications of Natural Polymer Gum Arabic: A

Review. **International Journal of Food Properties**, [s.l.], v. 18, n. 5, p.986-998, feb.

2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2013.809541>. Acesso em: 26 maio 2019.

PEREDO, K. *et al.* Acetylation of bleached Kraft pulp: Effect of xylan content on properties of acetylated compounds. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 117, p. 1014-1020, mar. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.004>. Acesso em: 26 maio 2019.

PIPPA, N. *et al.* Preparation, development and in vitro release evaluation of amphotericin B-loaded amphiphilic block copolymer vectors. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 473, n. 1–2, p. 80–86, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.07.001>. Acesso em: 26 maio 2019.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 7, aug. 2015.

PITOMBEIRA, N. A. O. *et al.* Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 117, p. 610–615, mar. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.087>. Acesso em: 26 maio 2019.

PORTO, B. C.; CRISTIANINI, M. Evaluation of cashew tree gum (*Anacardium occidentale* L.) emulsifying properties. **LWT- Food Science and Technology**, [s.l.], v. 59, n. 2, p. 1325-1331, dec. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.033>. Acesso em: 26 maio 2019.

POUTON, C. W. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 29, n. 3-4, p. 278-287, nov. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2006.04.016>. Acesso em: 26 maio 2019.

QUELEMES, P. *et al.* Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 14, n. 3, p. 4969-4981, mar. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms14034969>. Acesso em: 26 maio 2019.

QI, F. *et al.* Systematic studies of pickering emulsions stabilized by uniform-sized PLGA particles: preparation and stabilization mechanism. **Journal of Materials Chemistry B**, [s.l.], v. 2, n. 43, aug. 2014.

RAO, J. P.; GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, [s.l.], v. 36, n. 7, p. 887–913, jul. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.01.001>. Acesso em: 26 maio 2019.

RAYNER, M. *et al.* Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 458, n. 1, p. 48–62, sep. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.03.053>. Acesso em: 26 maio 2019.

REIS, A. V. *et al.* Synthesis and characterization of pH-responsive hydrogels based on chemically modified Arabic gum polysaccharide. **Polymer**, [s.l.], v. 47, n. 6, p. 2023-2029, mar. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2006.01.058>. Acesso em: 26 maio 2019.

RENARD, D. *et al.* Acacia senegal gum: Continuum of molecular species differing by their protein to sugar ratio, molecular weight, and charges. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 7, n. 9, p. 2637–2649, aug. 2006.

RIBEIRO, A. J. *et al.* Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 147, p. 188–200, aug. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.042>. Acesso em: 26 maio 2019.

RIBEIRO, A. C. *et al.* Synthesis and characterization of acetylated amylose and development of inclusion complexes with rifampicin. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 157, p. 267–274, feb. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.064>. Acesso em: 26 maio 2019.

RICHTER, A. R. *et al.* Pickering emulsion stabilized by cashew gum- poly-L-lactide copolymer nanoparticles: Synthesis, characterization and amphotericin B encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 164, p. 201–209, apr. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.01.023>. Acesso em: 26 maio 2019.

RÍOS, G.; PAZOS, C.; COCA, J. Destabilization of cutting oil emulsions using inorganic salts as coagulants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 138, n. 2–3, p. 383–389, jul. 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(97\)00083-6](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(97)00083-6). Acesso em: 26 maio 2019.

RIVAS, C. J. M. *et al.* Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 532, n. 1, p. 66–81, oct. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.08.064>. Acesso em: 26 maio 2019.

ROELOFS, P. D. *et al.* Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for Low Back Pain: An Updated Cochrane Review. **Spine**, [s.l.], v. 33, n. 16, p. 1766-1774, jul. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/brs.0b013e31817e69d3>. Acesso em: 26 maio 2019.

SARAVANAKUMAR, G. *et al.* Hydrotropic hyaluronic acid conjugates: Synthesis, characterization, and implications as a carrier of paclitaxel. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 394, n. 1–2, p. 154–161, jul. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.041>. Acesso em: 26 maio 2019.

SCHMITT, V.; DESTRIKATS, M.; BACKOV, R. Colloidal particles as liquid dispersion stabilizer: Pickering emulsions and materials thereof. **Comptes Rendus Physique**, [s.l.], v. 15, n. 8-9, p. 761-774, oct/nov. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crhy.2014.09.010>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHAH, B. R. *et al.* Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 52, p. 369–377, jan. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.015>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHAO, Y.; TANG, C. H. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, [s.l.], v. 79, p. 64–72, jan. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.11.025>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHAO, P. *et al.* Physical stabilities of taro starch nanoparticles stabilized Pickering emulsions and the potential application of encapsulated tea polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 118, p. 2032-2039, oct. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.076>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHEIKH, S. *et al.* Nanosomal Amphotericin B is an efficacious alternative to Ambisome® for fungal therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 397, n. 1-2, p. 103-108, sep. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.003>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHI, J. *et al.* International Journal of Biological Macromolecules Hydrophobically modified biomineralized polysaccharide alginate membrane for sustained smart drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 50, n. 3, p. 747–753, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.12.003>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHI, L. E. *et al.* Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. 147–151, nov. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.027>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHI, W.J. *et al.* Development and characterization of novel chitosan emulsion films via pickering emulsions incorporation approach. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 52, p. 253-264, jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.008>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHI, Y. *et al.* Characterization and emulsifying properties of octenyl succinate anhydride modified Acacia seyal gum (gum arabic). **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 65, p. 10–16, apr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.043>. Acesso em: 26 maio 2019.

SHTAY, R. *et al.* Encapsulation of (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in solid lipid nanoparticles for food applications. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 244, n. August 2018, p. 91-100, mar. 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877418303960>. Acesso em: 26 maio 2019.

SILVA, D. A. *et al.* Characterization of crosslinked cashew gum derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 66, n. 1, p. 16–26, oct. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.02.021>. Acesso em: 26 maio 2019.

SILVA, F. E. F. *et al.* 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. 927–934, jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.064>. Acesso em: 26 maio 2019.

SONG, X. *et al.* Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 45, p. 256–263, mar. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.007>. Acesso em: 26 maio 2019.

SONG, Y. *et al.* Effect of acetylation on antioxidant and cytoprotective activity of polysaccharides isolated from pumpkin (*Cucurbita pepo*, lady godiva). **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 98, n. 1, p. 686–691, oct. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.049>. Acesso em: 26 maio 2019.

SONNEVILLE-AUBRUN, O.; SIMONNET, J. T.; L'ALLORET, F. Nanoemulsions a new vehicle for skincare products. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], v. 108–109, p. 145–149, may 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.026>. Acesso em: 26 maio 2019.

SOSNIK, A.; NEVES, J.; SARMENTO, B. Mucoadhesive polymers in the design of nano-drug delivery systems for administration by non-parenteral routes: A review. **Progress in Polymer Science**, [s.l.], v. 39, n. 12, p. 2030–2075, dec. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2014.07.010>. Acesso em: 26 maio 2019.

SOSTRES, C. *et al.* Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 121–132, apr. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2009.11.005>. Acesso em: 26 maio 2019.

TAJIRI, T. *et al.* Developing dissolution testing methodologies for extended-release oral dosage forms with supersaturating properties. Case example: Solid dispersion matrix of indomethacin. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 490, n. 1–2, p. 368–374, jul. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.05.054>. Acesso em: 26 maio 2019.

TERAMOTO, N; SHIBATA, M. Synthesis and properties of pullulan acetate. Thermal properties, biodegradability, and a semi-clear gel formation in organic solvents. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 63, n. 4, p. 476–481, mar. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.10.008>. Acesso em: 26 maio 2019.

VEN, H. V. *et al.* PLGA nanoparticles and nanosuspensions with amphotericin B : Potent in vitro and in vivo alternatives to Fungizone and AmBisome. **Journal of Controlled Release**, [s.l.], v. 161, n. 3, p. 795–803, aug. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.05.037>. Acesso em: 26 maio 2019.

WALZ, M.; HIRTH, T.; WEBER, A. Investigation of chemically modified inulin as encapsulation material for pharmaceutical substances by spray-drying. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 536, p. 47–52, jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.07.072>. Acesso em: 26 maio 2019.

WALZ, M. *et al.* Degradation studies of modified inulin as potential encapsulation material for colon targeting and release of mesalamine. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 199, p. 102–108, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.015>. Acesso em: 26 maio 2019.

WANG, Y.; TAN, Y. Enhanced drug loading capacity of 10-hydroxycamptothecin-loaded nanoparticles prepared by two-step nanoprecipitation method. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 36, p. 183–191, dec. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2016.09.012>. Acesso em: 26 maio 2019.

WEN, C. *et al.* Preparation and stabilization of d-limonene Pickering emulsions by cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 112, p. 695–700, nov. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.051>. Acesso em: 26 maio 2019.

XIAO, J.; LI, Y.; HUANG, Q. Trends in Food Science & Technology Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions : Fabrication , characterization and research trends. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 55, p. 48–60, sep. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.010>. Acesso em: 26 maio 2019.

XIE, J. H. *et al.* Preparation, characterization and antioxidant activities of acetylated polysaccharides from Cyclocarya paliurus leaves. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 133, p. 596–604, nov. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.031>. Acesso em: 26 maio 2019.

XU, C. *et al.* Acetylation and characterization of spruce (*Picea abies*) galactoglucomannans. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 345, n. 6, p. 810–816, apr. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.01.007>. Acesso em: 26 maio 2019.

YANG, H. J.; PARK, I. S.; NA, K. Biocompatible microspheres based on acetylated polysaccharide prepared from water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double-emulsion method for delivery of type II diabetic drug (exenatide). **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 340, n. 1–3, p. 115–120, may 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.03.015>. Acesso em: 26 maio 2019.

YANG, J.; LIU, L.; HAN, S. Preparation of octyl-grafted alginate-amide gel particle and its application in Pickering emulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 529, p. 320–327, sep. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.06.018>. Acesso em: 26 maio 2019.

YAO, Y. *et al.* Preparation and evaluation of chitosan-based nanogels/gels for oral delivery of myricetin. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 91, p. 144–153, aug. 2016.

YI, T. *et al.* A new drug nanocrystal self-stabilized Pickering emulsion for oral delivery of silybin. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 96, p. 420–427, jan. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.047>. Acesso em: 26 maio 2019.

ZÁVIŠOVÁ, V. *et al.* Encapsulation of indomethacin in magnetic biodegradable polymer nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, [s.l.], v. 311, n. 1, p. 379–382, apr. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2006.11.177>. Acesso em: 26 maio 2019.

ZILTENER, J. L.; LEAL, S.; FOURNIER, P. E. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for athletes: An update. **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**, [s.l.], v. 53, n. 4, p. 278–288, may 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rehab.2010.03.001>. Acesso em: 26 maio 2019.

ZHANG, Z. *et al.* O-acetylation of low-molecular-weight polysaccharide from *Enteromorpha linza* with antioxidant activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 69, p. 39–45, aug. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.058>. Acesso em: 26 maio 2019.

ZHANG, S.; ZHOU, Y.; YANG, C. Pickering emulsions stabilized by the complex of polystyrene particles and chitosan. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 482, p. 338–344, oct. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.06.029>. Acesso em: 26 maio 2019.

ZHOU, Y. *et al.* Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 112, p. 7–13, jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.102>. Acesso em: 26 maio 2019.

ZHU, X. *et al.* Food Hydrocolloids Freeze-thaw stability of Pickering emulsions stabilized by soy protein nanoparticles. In fl uence of ionic strength before or after emulsi fi cation. **Food hydrocolloids**, [s.l.], v. 74, p. 37–45, jan. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.017>. Acesso em: 26 maio 2019.