



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

VENÍCIOS GONÇALVES SOMBRA

**NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DO POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO
DE *Sterculia striata* (GOMA DO CHICHÁ) MODIFICADO COM ANIDRIDO
FTÁLICO**

FORTALEZA

2015

VENÍCIOS GONÇALVES SOMBRA

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DO POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DE
Sterculia striata (GOMA DO CHICHÁ) MODIFICADO COM ANIDRIDO FTÁLICO

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Química.

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

FORTALEZA

2015

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)

S878n Sombra, Venícios Gonçalves.

Nanopartículas auto-organizadas do polissacarídeo extraído de *Sterculia striata* (goma do chichá) modificado com anidrido ftálico / Venícios Gonçalves Sombra. – 2015.
42 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2015.

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

1. Acilação. 2. *Sterculia striata*. 3. Nanopartículas. I. Título.

CDD 540

VENÍCIOS GONÇALVES SOMBRA

NANOPARTÍCULAS AUTO-ORGANIZADAS DO POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DE
Sterculia striata (GOMA DO CHICHÁ) MODIFICADO COM ANIDRIDO FTÁLICO

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Química.

Aprovada em 06/03/2015

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Regina Celia Monteiro de Paula
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

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

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e a criação de tudo.

Aos meus pais, Isamar e Edilene, por todos esses anos de amor e dedicação. Aos meus irmãos Cíntia e Alexandre, pela amizade, companheirismo e paciência. À toda minha família, tios, tias e avós.

À minha orientadora Regina Célia Monteiro de Paula, pela ajuda em todos esses anos de orientação. Pela compreensão e por todos ensinamentos com ela aprendidos.

Às professoras do Laboratório de Polímeros Judith Feitosa, Pablyana Cunha e Jeanny Maciel, por todo o suporte, amizade e disponibilidade, que contribuíram profundamente para minha formação pessoal e profissional.

À Natalia, meu amor, minha Flor, que durante todos esses anos tem sido minha companheira de todos os momentos. Nas inúmeras conversas, confissões, alicerçou-se uma relação de verdadeira cumplicidade e amor. A ela devo o fato de ter chegado até aqui. Suas contribuições perpassam este, e todos meus outros trabalhos.

À Nadia, pelo seu apoio como amiga e como profissional, desde as minhas primeiras práticas de Química Geral.

À Rayane, por sua amizade e por sempre estar disponível a ajudar

À Maria, por sua amizade e ajuda na realização desse trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório Polímeros - LabPol, pelo auxílio nos experimentos e pela amizade durante todos esses anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química. A todos os professores que direta ou indiretamente contribuíram com minha formação. Aos profissionais Célia, Orlando e Lana, pela ajuda, paciência, compreensão e descontração.

À CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq, INOMAT e FUNCAP pelo apoio financeiro.

RESUMO

Dentro da perspectiva de aplicação de polissacarídeos para a produção de nanopartículas para a incorporação e carreamento de fármacos, várias modificações têm sido propostas para a funcionalização das cadeias do polissacarídeo, gerando materiais mais hidrofílicos que interajam com o fármaco a ser utilizado. Reações de acilação têm sido utilizadas visando a hidrofobização de polissacarídeos para esse fim. Foram produzidos derivados acilados com anidrido ftálico a partir da goma do chichá variando a razão goma:anidrido em 1:6, 1:9 e 1:12. Foram produzidas nanopartículas a partir desses derivados, e avaliado o efeito da purificação dos derivados acilados na formação das nanopartículas que foram formadas por autoorganização através de diálise. Foram obtidos materiais hidrofóbicos através da entrada de grupos ftálicos na estrutura do polissacarídeo, essa modificação foi confirmada pelos espectros de infravermelho pelo aparecimento de bandas em 1604, 1580, 1490 e 1468 cm^{-1} , características de anel aromático, presente na estrutura do anidrido ftálico. Após a purificação dos derivados acilados foi obtido um resíduo reacional de 14,8%, 23,0% e 51,2% para os derivados CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12, respectivamente. As nanopartículas formadas a partir dos derivados não purificados apresentaram diminuição do índice de polidispersão (IPd) e aumento do diâmetro de partícula (d) com o aumento da concentração. Para as nanopartículas formadas a partir dos derivados purificados o aumento da concentração levou a um diminuição do índice de polidispersão. Após a purificação foram obtidas nanopartículas de tamanho maior que àquelas produzidas a partir dos derivados não purificados, e com maiores valores em módulo, de potencial zeta, que implica em uma maior estabilidade dessas nanopartículas. Para as nanopartículas produzidas pelo derivado não purificado, CHFT 1:12 na concentração 1,0 mg/mL, foram as que apresentaram menor IPd (0,140) e menor tamanho de partícula de 126,5 nm. As nanopartículas produzidas pelo derivado purificado, CHFTP 1:6 na concentração 1,0 mg/mL, foram as que apresentaram menor IPd (0,200) e menor tamanho de partícula de 299,3 nm.

Palavras-chave: Acilação. *Sterculia striata*. Nanopartículas.

ABSTRACT

From the perspective of polysaccharide application to produce nanoparticles for incorporation and release drugs various modifications have been proposed for polysaccharide chains functionalization, creating more hydrophobic materials that could interact with hydrophobic drugs. Acylation reactions have been used aiming polysaccharide hydrophobization for this purpose. Acylated derivatives were produced with phthalic anhydride from chicha gum varying Gum:anhydride ratios in 1:6, 1:9 and 1:12. Nanoparticles were produced from these derivatives and the effect of purification of the acylated derivatives in the formation of nanoparticles formed by self-assembled by dialysis was evaluated. Hydrophobic materials were obtained through the insertion of phthalic groups at the polysaccharide structure, this modification was confirmed by infrared spectroscopy by the appearance of bands at 1604, 1580, 1490 and 1468 cm^{-1} , characteristics of aromatic ring present in the structure of phthalic anhydride. After purification the acylated reaction residue was 14.8%, 23.0% and 51.2% for derivative CHFT 1:6, CHFT 1:9 and CHFT 1:12, respectively. Nanoparticles formed from the purified derivatives had not a decreasing in the polydispersity index (Pdl) and a increasing in the particle diameter (d) with the concentration increasing. For nanoparticles formed from the purified derivatives the increase of derivative concentration led to an increase in the polydispersity index. After purification were obtained nanoparticles smaller than those produced from unpurified derivatives to CHFTP 1:6 with higher values in modulus, zeta potential, which implies a greater stability of these nanoparticles. Nanoparticles produced with CHFT 1:12 at 1.0 mg/mL, showed the smallest IPd (0.140) and size of 126.5 nm. Nanoparticles formed using CHFTP 1 :6 at 1.0 mg/mL showed the smallest IPd (0.200) and size of 299,3 nm.

Keywords: Acylation. *Sterculia striata*. Nanoparticles.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Esquema de obtenção das nanopartículas pelo método de diálise.	12
Figura 2 –	Representação dos sistemas nanoestruturados que podem ser formados a partir de polissacarídeos anfifílicos.....	13
Figura 3 –	Reagentes e produtos de reações de acilação de uma unidade de galactose.....	15
Figura 4 –	Estrutura dos principais anidridos empregados em reações de acilação.....	15
Figura 5 –	Árvore da espécie <i>Sterculia striata</i> (a) e exsudato da planta (b)...	16
Figura 6 –	Espectros de absorção na região do infravermelho do polissacarídeo da goma do chichá(CH) e dos derivados acetilados(CHFT1:6:6, CHFT1:6:9 e CHFT1:6:12) (a) e ampliação da região entre 2000 e 400 cm ⁻¹ desses espectros (b)..	24
Figura 7 –	Espectros de absorção na região do infravermelho do polissacarídeo da goma do chichá (CH) e dos derivados acetilados e purificados (CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12) (a) e ampliação da região entre 2000 e 400 cm ⁻¹ desses espectros (b).....	25
Figura 8 -	Espectro de absorção na região do infravermelho do produto obtido da reação branco.....	26
Figura 9 –	Índice de polidispersividade em função da concentração de derivado acetilado para os sistemas nanoparticulados: CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.....	27
Figura 10 –	Índice de polidispersão em função da concentração de derivado acetilado e purificado para os sistemas nanoparticulados: CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.....	28
Figura 11 –	Curvas de distribuição de tamanho em função da concentração de derivado acilado para os sistemas nanoparticulados: CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.....	29

Figura 12 –	Curvas de distribuição de tamanho em função da concentração de derivado acilado e purificados para os sistemas nanoparticulados: CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.....	30
Figura 13 –	Efeito da razão molar Goma:Anidrido no IPd das nanopartículas de CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.....	31
Figura 14 –	Efeito da razão molar Goma:Anidrido no IPd das nanopartículas de CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1.....	32
Figura 15 –	Esquema de nanopartícula obtida a partir de polissacarídeo carregado negativamente e hidrofobizado.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores das razões molares entre piridina (P) e anidrido ftálico (A), e os valores em volume e massa de reagentes usados para cada razão.....	20
Tabela 2 –	– Porcentagem em massa dos derivados acilados CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12 antes e depois da purificação.....	23
Tabela 3 –	Valores de IPd, e tamanho de partícula e suas respectivas porcentagens em volume para as nanopartículas CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12, obtidas em diferentes concentrações de derivado acilado.....	33
Tabela 4 –	Valores de IPd, e tamanho de partícula e suas respectivas porcentagens em volume para as nanopartículas CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12, obtidas em diferentes concentrações de derivado acilado e purificado.....	34
Tabela 5 –	Valores de potencial zeta para as nanopartículas obtidas em diferentes concentrações de polissacarídeo acilado não purificado para os derivados CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.	35
Tabela 6 –	Valores de potencial zeta para as nanopartículas obtidas em diferentes concentrações de polissacarídeo acilado e purificado para os derivados CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.....	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Nanopartículas a partir de polissacarídeo hidrofóbicos.....	11
1.2	Derivados acetilados de polissacarídeos	14
1.3	Polissacarídeo do exsudato do chichá (<i>Sterculia striata</i>)	17
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	Objetivo geral.....	19
2.2	Objetivos específicos.....	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1	Materiais.....	20
3.2	Síntese dos derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá.....	20
3.3	Purificação dos derivados acilados da goma do chichá.....	21
3.4	Formação de nanopartículas a partir dos derivados acilados da goma do chichá.....	22
3.5	Caracterização dos derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá e das nanopartículas formadas a partir dos derivados acilados.....	22
3.5.1	<i>Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR)</i>	22
3.5.2	<i>Tamanho de partícula e Potencial zeta (Pζ) por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)</i>	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1	Síntese e caracterização dos derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá.....	23
4.1.1	<i>Purificação dos derivados acilados da goma do chichá</i>	23
4.1.2	<i>Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR)</i>	24
4.2	Caracterização das nanopartículas à base dos derivados acilados	

	do polissacarídeo da goma do chichá.....	26
4.2.1	<i>Tamanho de partícula por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).....</i>	26
4.2.2	<i>Potencial zeta (Pζ).....</i>	35
5	CONCLUSÕES.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos pertencem a uma importante classe dos polímeros naturais e muitos autores têm estudado a relação entre a sua estrutura química e as propriedades físico-químicas destes polímeros, principalmente em solução e na preparação de novos materiais com aplicações biológicas. A aplicação de materiais poliméricos nos diversos campos da ciência, como na engenharia de tecidos (BI *et al.*, 2011), implantes de próteses (STASIAK *et al.*, 2011), liberação controlada de fármacos e genes (ZENG *et al.*, 2012), proporcionou o desenvolvimento de matrizes poliméricas biocompatíveis e biodegradáveis (SOLEYMAN e ADELI, 2015), como as nanopartículas.

1.1 Nanopartículas a partir de polissacarídeos hidrofóbicos

Caracteriza-se como nanomaterial, àquele que apresenta pelo menos uma das dimensões em escala nanométrica (<100 nm) (JRC REFERENCE REPORTS, 2013). Nessa escala, os materiais assumem uma maior área superficial adquirindo, novas propriedades, que não seriam observados em outra escala.

Os sistemas poliméricos nanoparticulados, utilizados na área farmacêutica, compreendem partículas com tamanho inferior a 1000 nm e com diferentes morfologias, incluindo nanoesferas, nanocápsulas, nanomicelas, nanolipossomas e nanofármacos (LIU *et al.*, 2008). Essas nanopartículas podem ser utilizadas como carreadores de fármacos, proteínas, componentes de vacinas, ácidos nucleicos, etc. (LIU *et al.*, 2008). A utilização de carreadores traz como vantagens: maior estabilidade do fármaco, possibilidade de produção em larga escala e por diferentes métodos, maior eficiência em comparação com as administrações oral e intravenosa tradicionais, liberação direcionada e controlada do fármaco (LEMARCHAND, GREF e COUVREUR, 2004).

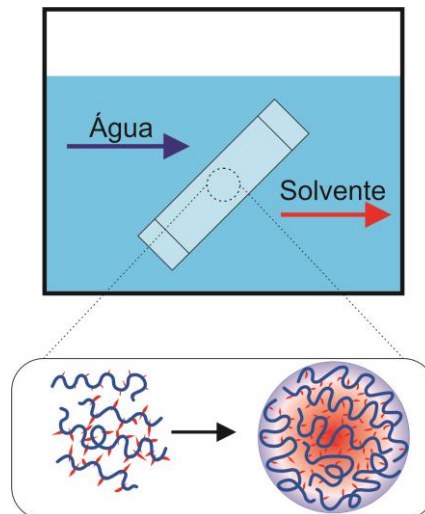
Nanopartículas a partir de polissacarídeos, geralmente hidrofobizados, podem ser obtidas por diferentes métodos. Os mais reportados na literatura são a nanoprecipitação, a nanoemulsificação (difusão de solvente), evaporação de solvente e diálise (YADAV *et al.*, 2012).

A preparação de nanopartículas pelo método de diálise é bastante utilizada para nanopartículas à base de polissacarídeos, sendo um método simples e que leva

produção de nanopartículas pequenas e de baixa polidispersão (KOSTOG *et al.*, 2010; JEON *et al.*, 2010). Primeiramente, o polissacarídeo é disperso em um solvente orgânico (DMSO, DMFA, FA, etc.) e colocado em membrana de diálise. A diálise é então realizada contra um não solvente do polissacarídeo, que seja miscível no solvente orgânico.

A Figura 1 mostra o esquema de formação de NP pelo método de diálise, onde as nanopartículas são formadas por agregação à medida que o polissacarídeo perde a solubilidade ao entrar em contato com o solvente de entrada (água), formando uma suspensão de nanopartículas. O mecanismo de agregação por esse método de formação ainda não é bem elucidado (YADAV *et al.*, 2012).

Figura 1 – Esquema de obtenção das nanopartículas pelo método de diálise.



Fonte: Adaptado de ZHANG , CHUNG , PRIESTLEY, 2012.

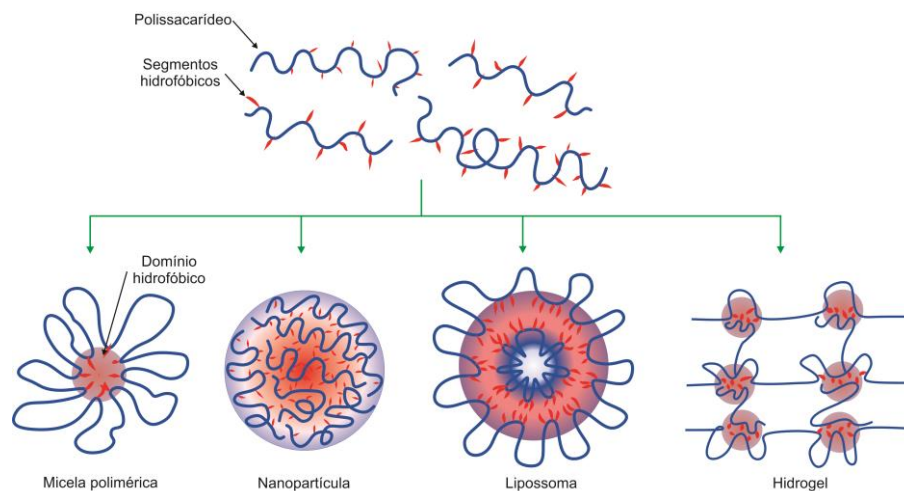
Devido a utilização de solventes com diferentes polaridades, os principais materiais utilizados para a preparação de nanopartículas pelo método diálise são os copolímeros em bloco e enxertados e os polímeros anfifílicos (LASIC, 1992; La *et al.*, 1996). Porém, tem-se relatos de produção de nanopartículas a partir de polímeros não anfifílicos com e sem o uso de surfactante (NAH *et al.*, 1998).

O processo de auto-organização em polissacarídeos, similar ao que ocorre com moléculas anfifílicas, como tensoativos e lípidios, é controlado pelo equilíbrio entre a interação dos grupos hidrofóbicos e as cadeias hidrofílicas. A concentração na qual a formação dos agregados se inicia é chamada de concentração de associação crítica (CAC) (HASSANI, HENDRA e BOUCHEMAL, 2012).

Assim, as nanopartículas formadas por auto-organização, como se dá no método de diálise, são geralmente compostas por um núcleo hidrofóbico e um invólucro hidrofílico. Essa natureza anfifílica faz com que essas estruturas sejam um promissor carreador de fármacos hidrofóbicos (LETCHEFORD e BURT, 2007). Acredita-se que esse sistema seja vantajoso, uma vez que o núcleo hidrofóbico é um sítio para incorporação do fármaco e a superfície hidrofílica pode ser usada para evitar ataques biológicos, como os de macrófagos e de proteínas plasmáticas. A estabilidade termodinâmica e o tamanho reduzido tornam essas nanopartículas veículos eficazes para a circulação prolongada na corrente sanguínea e para o direcionamento a tumores sólidos (JUNG, JEONG e KIM, 2003).

Os polissacarídeos anfifílicos utilizados para a produção das NPs podem ser formados pela inserção de grupos hidrofóbicos na cadeia do polissacarídeo. Em meio aquoso, polissacarídeos anfifílicos podem formar, espontaneamente, diferentes sistemas nanoestruturados como micelas, nanopartículas, microesferas, lipossomas e hidrogéis, como mostrado na Figura 2. Esses sistemas são formados por interações intra ou intermoleculares entre as porções hidrofóbicas, principalmente para minimizar a energia livre interfacial (HASSANI, HENDRA e BOUCHEMAL, 2012; LIU *et al.*, 2008).

Figura 2 – Representação dos sistemas nanoestruturados que podem ser formados a partir de polissacarídeos anfifílicos.



Fonte: Adaptado de HASSANI, HENDRA, BOUCHEMAL, 2012.

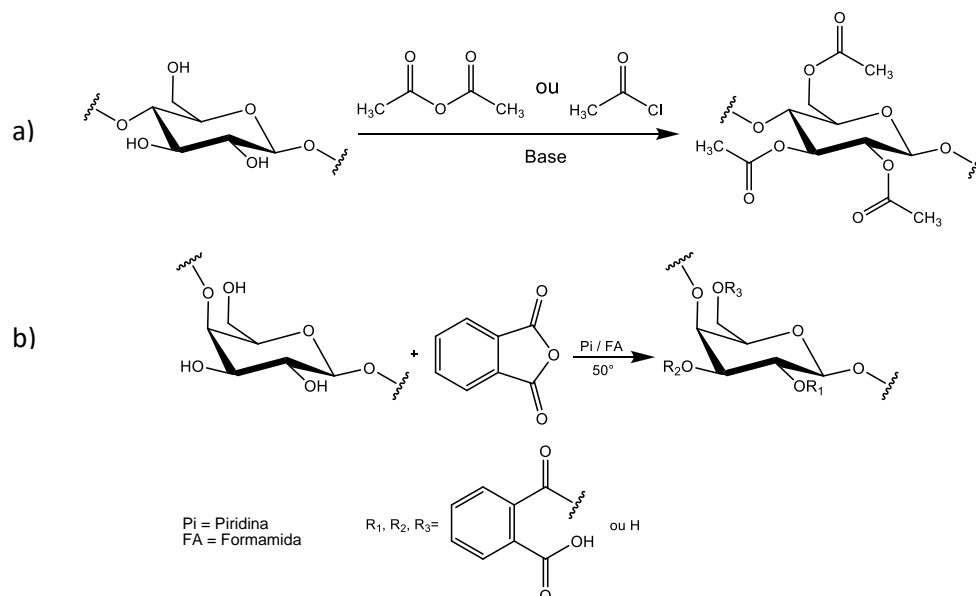
1.2 Derivados acilados de polissacarídeos

Dentro da perspectiva de aplicação de polissacarídeos para a produção de nanopartículas para a incorporação e carreamento de moléculas, várias modificações têm sido propostas para a funcionalização das cadeias do polissacarídeo, gerando materiais mais hidrofílicos, mais hidrofóbicos, ou pela inserção de grupos que de alguma forma interajam com o fármaco a ser utilizado.

Reações de acilação ocorrem pela adição de um grupo acila ao polissacarídeo, utilizando agentes acilantes como ácidos carboxílicos, por catálise ácida, ou derivados de ácido como cloreto de acila ou anidridos, catalisados por base. Os cloretos são bem mais reativos que os anidridos. Por esse motivo, os anidridos são usados na maioria das reações de acilação de polissacarídeos, por proporcionarem um maior controle da reação.

A Figura 3 mostra os diferentes produtos formados a partir dos possíveis agentes acilantes, utilizando a galactose como unidade representativa.

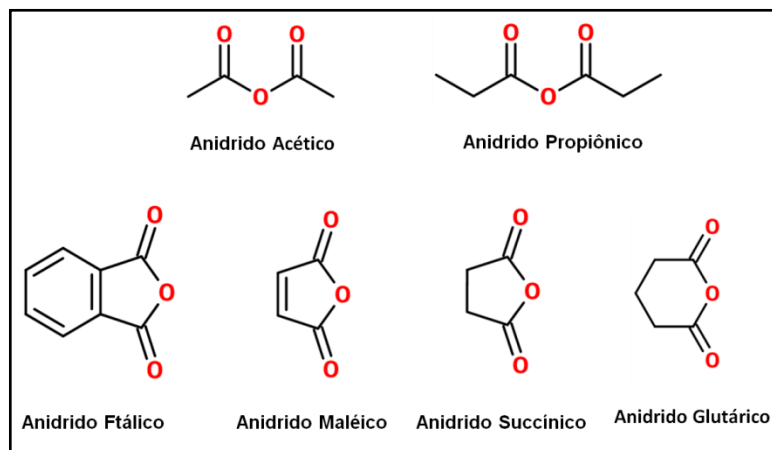
Figura 3 – Reagentes e produtos de reações de acilação de uma unidade de galactose.



Fonte: Adaptado de (a) LI *et al.*, 2009, (b), HEINZ *et al.* 2006.

Dentre os anidridos mais empregados pode-se citar os anidridos de cadeia aberta, acético e propiônico e os anidridos cíclicos, mostrados na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura dos principais anidridos empregados em reações de acilação.



Fonte: O próprio autor.

Reações de acilação usando DMSO como solvente são as mais empregadas por esse ser um solvente de baixa toxicidade e de elevado ponto de ebulição, o que facilita seu uso em reações com temperaturas mais elevadas.

Para polissacarídeos solúveis em meio aquoso, a reação de acilação tem sido eficiente na introdução de grupos hidrofóbicos, produzindo polissacarídeos anfifílicos que podem ser utilizados na obtenção de nanopartículas empregadas como sistemas carreadores (ROUZES *et al.*, 2000; FOURNIER, LEONARD e DELLACHERIE, 1998).

Dentre as várias possíveis modificações, uma das mais empregadas é a reação de acilação, pela qual já foram modificados os seguintes polissacarídeos: celulose (HORNIG & HEINZE, 2008; LUCERO *et al.*, 2013), dextrana (HASSANI *et al.*, 2012; AUMELAS *et al.*, 2007; HORNIG, BUNJES, HEINZE, 2009; NICHIFOR *et al.*, 1999), pululana (LEE *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2009), quitosana (HASSANI *et al.*, 2012; HWANG *et al.*, 2008), sulfato de condroitina (PARK *et al.*, 2010), heparina (PARK *et al.*, 2004) e alginato (SHI *et al.*, 2012; PAWAR e EDGAR, 2012), e goma do cajueiro (PITOMBEIRA *et al.*, 2014). Esses derivados de polissacarídeos foram utilizados para formação de nanopartículas por auto-organização e testados como sistemas carreadores de fármacos.

A funcionalização da dextrana permite a liberação de fármacos em sítios específicos das células epiteliais humanas (CANSELL *et al.*, 1999) e em células musculares (LETOURNEUR *et al.* 2000). Ésteres de dextrana com diferentes graus de substituição formam nanoesferas regulares durante processo de diálise. Os ésteres de dextrana em *N,N*-dimetilacetamida dialisados contra água destilada formam nanopartículas com tamanho variando de 90-520 nm. O tamanho dessas nanopartículas depende do grau de substituição dos ésteres na cadeia da dextrana e da massa molar do polímero (HORNING e HEINZE, 2007).

Derivados hidrofóbicos de dextrana obtidos pela inserção de cadeias carbônicas de diferentes comprimentos foram sintetizados e caracterizados por AUMELAS *et al.*, (2007). Nanopartículas variando de 145 a 300 nm destes derivados foram obtidas via nanoemulsão e nanoprecipitação. Nanopartículas produzidas via nanoemulsão apresentaram maiores tamanhos do que quando produzidas pelo método da nanoprecipitação (AUMELAS *et al.*, 2007).

Derivados hidrofóbicos de pululanas permitem a formação de nanopartículas e a estabilização de proteínas, podendo essas nanopartículas serem utilizadas como veículos carreadores de fármacos em sítios específicos. Derivados de pululanas com palmitol e colesterol podem ser utilizados para estabilizar fármacos como doxorubicina (AKIYOSHI *et al.*, 1996) e insulina (AKIYOSHI *et al.*, 1998). Nanopartículas de pululana com oligosulfonamida apresentam potencial para liberação em células de câncer (NA *et al.*, 2003). Acetatos de pululana foram utilizados para preparação de nanopartículas por difusão de solvente. O aumento do grau de acetilação de 2,7 para 3,0 promoveu um aumento do tamanho de partículas (185,7 para 423,0 nm), aumento do teor de encapsulamento de um fármaco hidrofóbico (de 38,9% para 61,8%) e aumento do índice de polidispersividade. A presença do fármaco promoveu uma elevação do tamanho de partícula, sendo mais acentuada (95%) para amostra com menor grau de substituição (ZHANG *et al.*, 2009).

Lee *et al.* (2012) produziram nanopartículas de acetato de pululana por nanoprecipitação, através da adição de uma solução desta amostra dissolvida em solvente orgânico em água. Nanopartículas com tamanho inferior a 100 nm foram obtidas. A incorporação de plactaxel provoca um aumento no tamanho na ordem de 88%. Dependendo do tipo de solvente, o percentual de fármaco encapsulado varia de 81 a 67%. O maior teor de incorporação foi obtido utilizando DMF como solvente. O

tamanho das partículas aumenta após a incorporação do fármaco, a menor variação de tamanho ocorreu quando DMAc foi utilizado como solvente orgânico.

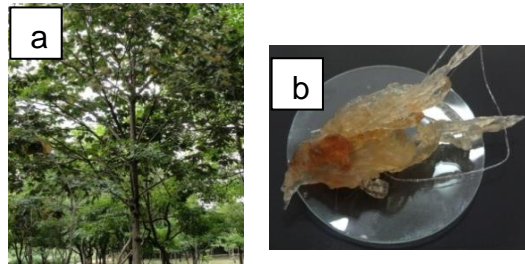
A goma do cajueiro foi acetilada e nanopartículas produzidas utilizando o método de diálise. O grau de substituição obtido foi 2,8. O tamanho médio das nanopartículas obtidas utilizando DMSO como solvente foi de 179 nm e a concentração crítica de agregação de $2,1 \times 10^{-3}$ g/L. Indometacina foi utilizada como fármaco modelo para verificar a capacidade de incorporação e o perfil de liberação do fármaco. O percentual de incorporação foi de 46,7% e houve uma liberação rápida nas primeiras 2 h seguida de uma liberação controlada (PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

1.3 Polissacarídeo do exsudato do chichá (*Sterculia striata*)

Árvores do gênero *Sterculia* são conhecidas pela produção de polissacarídeos ácidos de alta massa molar que formam soluções aquosas de alta viscosidade e com propriedades gelificantes, como reportado para goma caraia produzida a partir do exsudato da árvore *Sterculia urens* (LE CERF *et al.*, 1990). A goma caraia é utilizada industrialmente como agente espessante, inibidor de apetite, dentre outras aplicações. Mais recentemente, tem-se proposto o uso da goma caraia na produção de nanopartículas para aplicação em carreamento de fármacos. Essa possibilidade favorece o uso de outras gomas, de origem regional, com estrutura e propriedades semelhantes às gomas já aplicadas para produção dessas nanopartículas, como a goma do chichá.

O chichá (*Sterculia striata*), uma angiosperma da família Malvaceae. Nativa do Cerrado, encontra-se distribuída nos estados de Minas Gerais, Ceará, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Bahia, Piauí, Maranhão e no Distrito Federal. O chichá é também conhecido como amendoim-de-macaco, castanha-de-macaco, mendubi-guaçu, castanheiro-do-mato, aracha-chá e pau-rei (ALMEIDA, 1998). Assim como outras espécies do gênero *Sterculia*, o chichá produz exsudato (Figura 5b), de onde se extrai um polissacarídeo com propriedades e estrutura semelhantes às da goma caraia.

Figura 5 – Árvore da espécie *Sterculia striata* (a) e exsudato da planta (b)



Fonte: (a) Árvores, 2014 e (b) O próprio autor.

O polissacarídeo do exsudado do chichá é uma ramnogalacturonana, composta por galactose (19,3 – 23,4%), ramnose (23,8 - 28,8%), ácidos urônicos (galacturônico e glucurônicos, 42,2 – 49,2%), resíduos de xilose (5,6 – 7,7 %) e grupos acetila (9,6%) (BRITO *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2003)

Os grupos acetila criam domínios hidrofóbicos na estrutura do polissacarídeo reduzindo sua solubilidade em água, que por sua vez é absorvida formando géis de alta viscosidade. A deacetilação da goma do chichá leva a formação de um polímero com cadeias mais flexíveis (SILVA *et al.*, 2003). O polissacarídeo extraído do exsudato do chichá foi investigado para formação de nanocompósitos, utilizando a técnica de formação de filmes finos, para aplicação com detectores na imobilização de lisoenzimas (EIRAS *et al.*, 2007; ZAMPA *et al.* 2007). Filmes ultrafinos de goma de chichá e fitalocianina em uma arquitetura de tetra camadas foram produzidos e apresentaram capacidade de detectar dopamina a concentrações baixas (10^{-5} mol/L) (ZAMPA *et al.*, 2007). Filmes ultrafinos de goma do chichá e derivados de polianilina com um grupo metoxi na posição orto aos anéis de carbono (POMA) foram produzidos e comparados a outros sistemas com polissacarídeos (EIRAS *et al.*, 2007). Os filmes que continham goma do chichá apresentaram maior estabilidade eletroquímica (EIRAS *et al.*, 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar derivados acilados a partir da goma do chichá e produzir nanopartículas a partir desses derivados, para serem aplicadas como potencial matriz de transporte de fármacos hidrofóbicos em meio aquoso.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá utilizando anidrido ftálico como agente acilante;
- Avaliar o efeito das diferentes proporções entre goma e anidrido ftálico na obtenção dos derivados acilados;
- Purificar e caracterizar os derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá;
- Produzir nanopartículas a partir dos derivados acilados purificados e não purificados do polissacarídeo da goma do chichá;
- Avaliar o efeito da purificação dos derivados acetilado na formação das nanopartículas;
- Caracterizar as nanopartículas formadas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Todos os reagentes foram utilizados sem purificação prévia.

A membrana de diálise foi obtida da Sigma-Aldrich com limite de massa molar de aproximadamente 14000 g/mol.

A goma do chichá foi isolada por método previamente desenvolvido no Laboratório de Polímeros e descrito em BRITO *et al.* (2004) a partir do exsudato do chichá coletado em Fortaleza, em Setembro de 2013

Foi utilizada água destilada em todas as etapas dos experimentos.

3.2 Síntese dos derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá

Os derivados acilados foram obtidos por reação de acilação com anidrido ftálico (A) seguindo o método descrito por MOTOZATO *et al.* (1986), com algumas modificações.

A reação foi realizada utilizando formamida (FA) como solvente e piridina (P) como catalisador. Foram feitos experimentos variando a razão molar entre a unidade monossacarídica do polissacarídeo e o anidrido ftálico (AF), nas proporções 1:6, 1:9 e 1:12. A razão molar entre unidades monossacarídicas e piridina foi mantida em 1:6, com a adição de 2,76 mL de piridina para as três reações apresentadas (Tabela 1). O volume de formamida utilizado em todos os sistemas foi de 40 mL.

Assumiu-se a massa molar da unidade monossacarídica da goma do chichá como 177,2 g/mol, sendo esse valor a média ponderada entre o valor de massa molar das unidades neutras (162 g/mol) e das unidades carboxiladas na forma de sal de sódio (198 g/mol).

Tabela 1 – Valores das razões molares entre goma e anidrido ftálico (AF), e os valores em volume e massa de reagentes usados para cada razão.

Razão Molar Goma:AF	Goma do chichá (g)	Anidrido ftálico (g)
1:6	1	5,07
1:9	1	7,60
1:12	1	10,1

Primeiramente, o polissacarídeo foi disperso em 40 mL de formamida e o sistema deixado sob agitação à temperatura de 50 °C por 24 h, quando foi adicionada a piridina, seguida da adição lenta do anidrido ftálico. O sistema permaneceu sob agitação, na temperatura de 50 °C, por mais 24 h.

Depois de decorridas 24 h de reação, o derivado modificado foi precipitado pela adição de água destilada gelada, a mistura reacional, na proporção volumétrica mistura reacional:água de 1:4. O precipitado foi lavado com água destilada gelada em funil de placa sinterizada com porosidade G3 e o material ressuspensionado em água e dialisado contra água e a diálise acompanhada por condutância. Após a diálise, os derivados foram liofilizados, obtendo-se os derivados acilados secos: CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.

Foi realizada uma reação semelhante ao método descrito para a obtenção dos derivados acilados, porém com a ausência da goma do chichá, com o objetivo de verificar a solubilidade dos produtos da reação entre o anidrido ftálico e a piridina nas condições reacionais. Dependendo da sua solubilidade, esses produtos indesejados podem precipitar juntamente com o produto de interesse durante o processo de obtenção do derivado. Após a reação o material foi precipitado em água destilada, lavado com água destilada e seco em almofariz com ar quente.

3.3 Purificação dos derivados acilados da goma do chichá

Os derivados acilados foram purificados para a remoção de subprodutos da reação de baixa massa molar e insolúveis em água que, portanto, não foram removidos por diálise contra água, durante a obtenção do derivado.

A purificação foi realizada pela dispersão do derivado acilado em dimetilsulfóxido (DMSO), seguida de diálise contra DMSO. A diálise foi acompanhada por espectrofotometria na região do UV-Vis, utilizando equipamento UV-8000 da Shimadzu, avaliando a banda de absorção em 292 nm. Após a diálise contra DMSO, a dispersão foi dialisada contra água destilada para a remoção do DMSO, e posteriormente liofilizada. Após a obtenção dos produtos, o rendimento da purificação foi calculado.

3.4 Formação de nanopartículas a partir dos derivados acilados da goma do chichá

Para avaliar o efeito da concentração do polissacarídeo modificado na formação das nanopartículas, foram preparadas nanopartículas via auto-organização por diálise, a partir de diferentes concentrações de derivado.

Os derivados acilados foram dissolvidos em DMSO a fim de obter 5 mL de solução nas seguintes concentrações: 1,0; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,05; 0,01 e 0,005 mg/mL. Os sistemas foram dialisados contra água destilada duas vezes por dia, durante três dias. Após esse período, eles foram retirados da diálise e as medidas de tamanho de partícula e potencial zeta foram realizadas. O procedimento de obtenção das nanopartículas foi reproduzido para os derivados acilados e purificados.

3.5 Caracterização dos derivados acilados do polissacarídeo da goma do chichá e das nanopartículas formadas a partir dos derivados acilados

3.5.1 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros vibracionais dos polissacarídeo e dos seus derivados acilados foram obtidos em pastilhas de KBr em equipamento FTLA 2000, ABB Bomem, de 400 a 4000 cm^{-1} .

3.5.2 Tamanho de partícula e Potencial zeta ($P\zeta$) por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

O tamanho das nanopartículas produzidas, seus valores de polidispersão e potencial zeta foram determinados a 25°C, utilizando o equipamento Nano ZetaSizer da Malvern, Modelo ZS 3600 com laser de comprimento de onda de 633 nm e ângulo de espalhamento de 173° para tamanho de partícula e de 17° para determinação de potencial zeta. Os valores de diâmetro de partícula foram reportados em porcentagem em volume.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização dos derivados acilados e purificados e não purificado do polissacarídeo da goma do chichá

Os derivados acilados apresentam coloração branca e mostraram-se insolúveis em água. Esse comportamento era esperado, uma vez que a adição de grupos acila aumenta a hidrofobicidade do polissacarídeo.

4.1.1 Purificação dos derivados acilados da goma do chichá

Os derivados acilados e purificados apresentaram aparência semelhante aos derivados não purificados, porém o percentual em massa do produto purificado em relação à massa inicial de polissacarídeo mostrou-se bem menor do que os valores calculados para o material não purificado, como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Porcentagem em massa dos derivados acilados CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12 antes e depois da purificação.

	Não purificado	Purificado	Resíduo
CHFT 1:6	110,4%	94,1%	14,8%
CHFT 1:9	159,0%	122,4%	23,0%
CHFT 1:12	275,2%	134,2%	51,2%

A diminuição do percentual de material obtido indica que o processo de diálise contra DMSO permitiu a retirada do ácido ftálico precipitado junto com o polissacarídeo modificado.

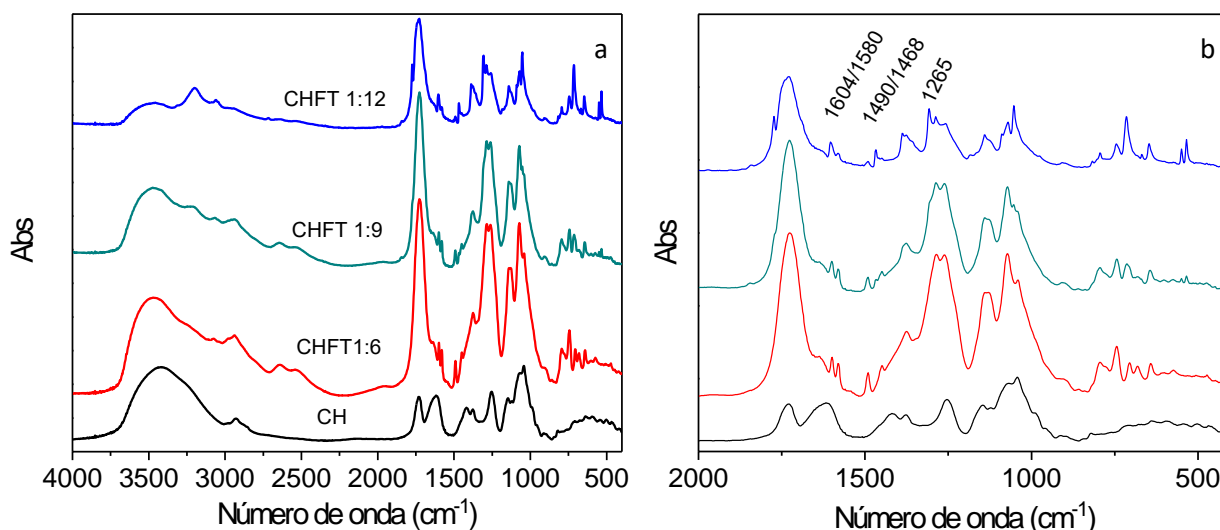
Pode-se observar para todos os derivados a presença de material residual após a síntese, mesmo após diálise contra água. Esse resíduo só é eliminado após diálise contra DMSO dada sua natureza hidrofóbica. Também é verificado que para o derivado produzido com maior concentração de anidrido ftálico a massa residual é bem maior (51,2%) do que a observada para os demais derivados.

4.1.2 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de infravermelhos para o polissacarídeo não modificado (CH) e para os derivados acilados são mostrados na Figura 6.

Para o espectro de CH é possível observar bandas características de polissacarídeos do chichá como em 1044 cm^{-1} atribuído a C-O-C de ligação glicosídica e bandas em 3420 cm^{-1} de estiramento O-H, 1729 e 1617 cm^{-1} de carbonila de carboxilato protonado e desprotonado, respectivamente (GÓMEZ-ORDÓÑEZ e RUPÉREZ, 2011). Há também banda em 1253 cm^{-1} , que pode ser atribuída a C-O de grupo acetil presente na goma do chichá (BRITO *et al.*, 2004).

Figura 6 – Espectros de absorção na região do infravermelho do polissacarídeo da goma do chichá(CH) e dos derivados acilados (CHFT1:6:6, CHFT1:6:9 e CHFT1:6:12) (a) e ampliação da região entre 2000 e 400 cm^{-1} desses espectros (b).

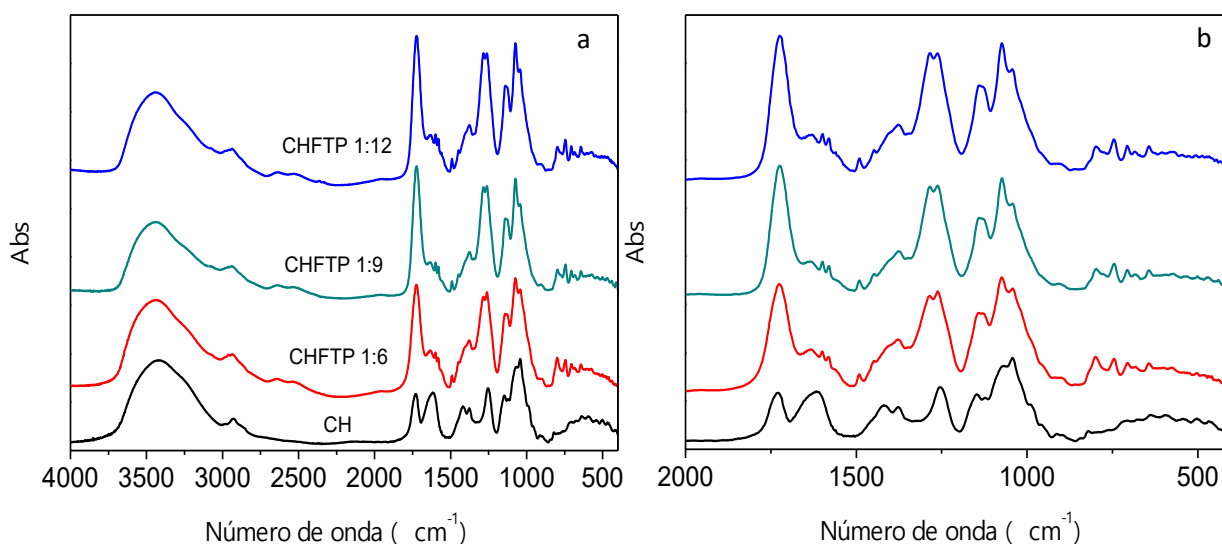


Para os derivados acilados antes da purificação com DMSO é possível observar o aparecimento de banda em 3062 cm^{-1} que pode ser atribuída a ligações C-H de anel aromático, proveniente dos grupos ftálicos (PRETSCH *et al.*, 2009). A Figura 6B mostra a região ampliada onde encontram-se as bandas em 1604, 1580, 1490 e 1468 cm^{-1} , características do anel aromático orto substituído, observadas nos espectros dos derivados (COLTHUP, 1950). Observa-se em todos os espectros dos derivados uma intensificação da banda em 1730 cm^{-1} de estiramento C=O devido ao aumento desse grupo na amostra.

Quando comparados os espectros dos derivados modificados, perceber-se que há um aumento relativo da banda de ligação C-H de compostos aromáticos (3202 cm^{-1}), bem como a diminuição da banda de O-H, presente no polissacarídeo, à medida que a razão goma:anidrido aumenta. Também é possível observar uma nova banda para os espectros dos derivados, em 1265 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento de ligação C-O de grupos ftálicos (MELO *et al.*, 2010).

A Figura 7 mostra os espectros de infravermelho para os derivados acilados purificados. Os espectros mostraram perfis semelhantes ao do polissacarídeo modificado não purificado, apresentando bandas em 1604 , 1580 , 1490 e 1468 cm^{-1} , características de anel aromático orto substituído (COLTHUP, 1950), e banda em 1265 cm^{-1} atribuída ao estiramento C-O de grupo ftálico (MELO *et al.*, 2010), semelhantes aos derivados não purificados.

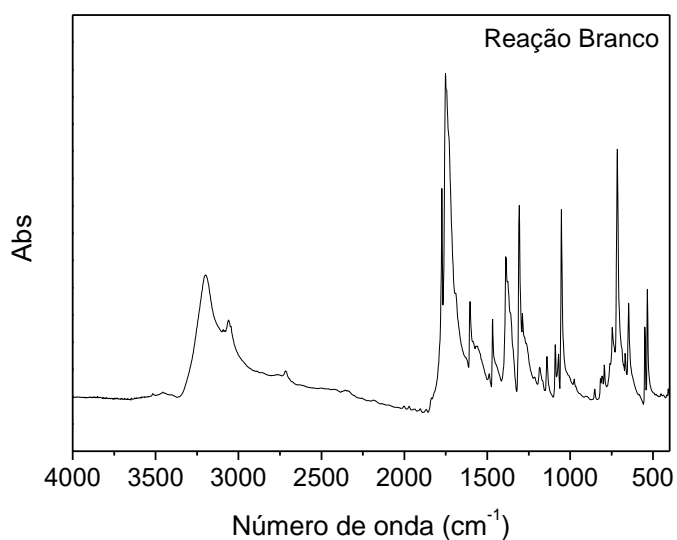
Figura 7 – Espectros de absorção na região do infravermelho do polissacarídeo da goma do chichá (CH) e dos derivados acilados e purificados (CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12) (a) e ampliação da região entre 2000 e 400 cm^{-1} desses espectros (b).



Para todos os espectros, há uma diminuição da razão entre as bandas em 1730 cm^{-1} e 3420 cm^{-1} quando comparados com os derivados não purificados, indicado que a purificação removeu compostos com grupos carbonílicos. Essa diminuição é mais pronunciada para o derivado CHFT 1:12, em concordância com o resultado do rendimento da purificação, onde o derivado possuiu o maior teor de resíduo ($51,2\%$). O efeito da purificação nos espectros de infravermelho mostra-se

mais pronunciado na região compreendida entre 400 e 850 cm^{-1} , onde são observados sinais mais estreitos para os derivados não purificados, em especial, o derivado CHFT 1:12, característicos do material insolúvel obtido pela reação do branco (Figura 8). Nessa região do infravermelho, observou-se após a purificação, que os derivados se tornaram semelhantes, quando comparados aos não purificados.

Figura 8 – Espectro de absorção na região do infravermelho do produto obtido da reação branco.

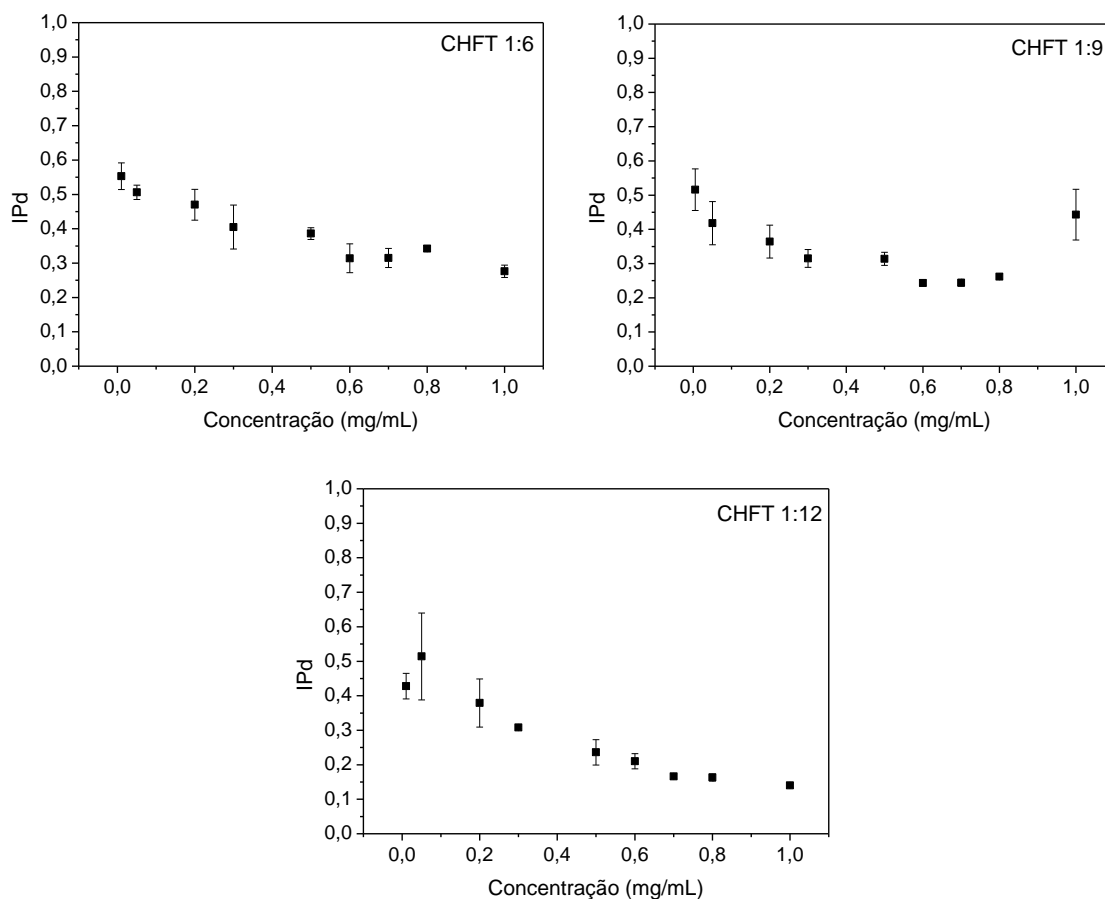


4.2 Caracterização das nanopartículas obtidas a partir dos derivados acilados purificados e não purificados do polissacarídeo da goma do chichá

4.2.1 Tamanho de Partícula por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Para todos os sistemas estudados, o aumento da concentração do derivado acilado levou a uma maior organização dos sistemas coloidais, refletida nos menores valores de índice de polidispersividade (IPd), como pode ser observado na Figura 9.

Figura 9 – Índice de polidispersividade em função da concentração de derivado acilado para os sistemas nanoparticulados: CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.

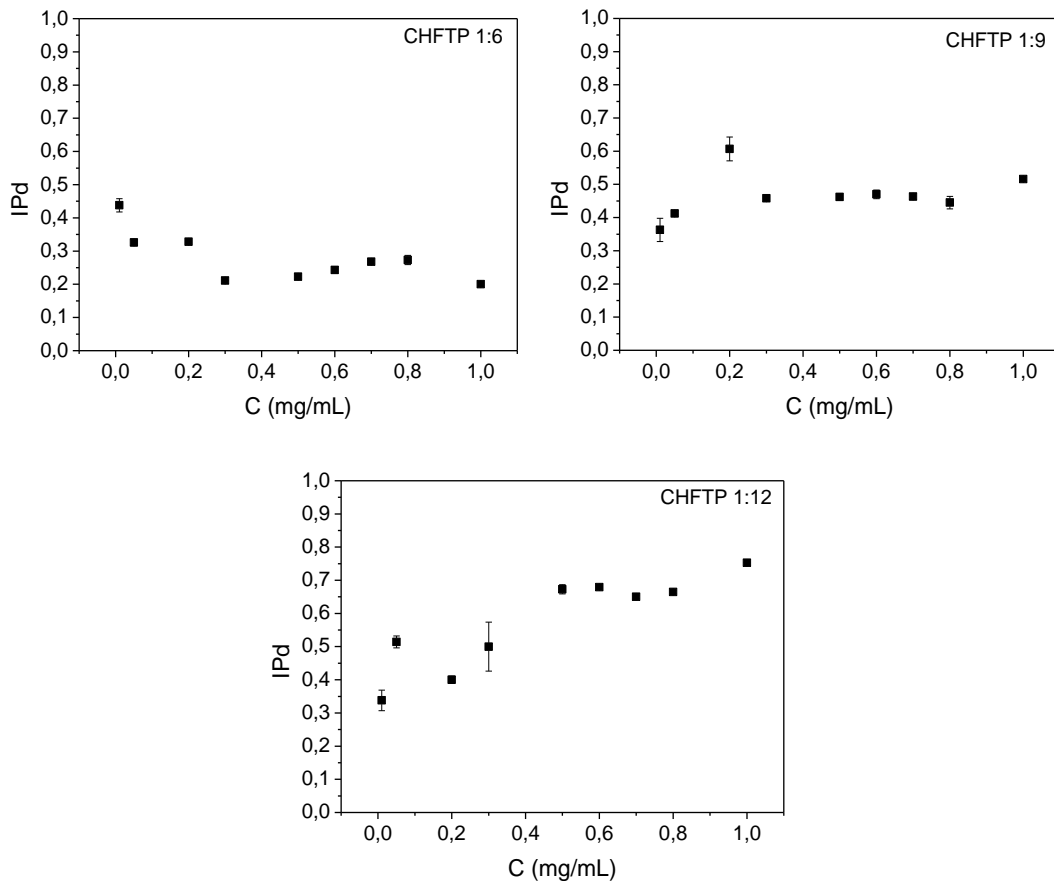


As NPs produzidas a partir dos derivados CHFT 1:6 e CHFT 1:9 apresentaram comportamento semelhante entre si com uma diminuição no IPd com a concentração e atingindo valores semelhantes a partir da concentração de 0,6 mg/mL. Contudo, para as NPs obtidas com o derivado CHFT 1:9 ocorre um aumento abrupto do índice de polidispersividade para a maior concentração de derivado acilado (1,0 mg/mL). Para as NPs produzidas utilizando o derivado CHFT 1:12, também se observa uma diminuição do IPd com o aumento da concentração. O sistema parece tender a uma estabilidade a concentrações acima de 0,7 mg/mL.

O efeito da concentração no índice de polidispersividade das nanopartículas obtidas com derivados purificados é mostrado na Figura 10. Para as

nanopartículas obtidas com o derivado CHFTP 1:6 observa-se um comportamento semelhante ao observado para os derivado não purificados, com uma diminuição do valor de IPd com o aumento da concentração, indicando que com maiores concentrações de derivados são obtidos sistemas mais organizados com IPd variando de 0,200 a 0,273, para as concentrações acima de 0,3 mg/mL.

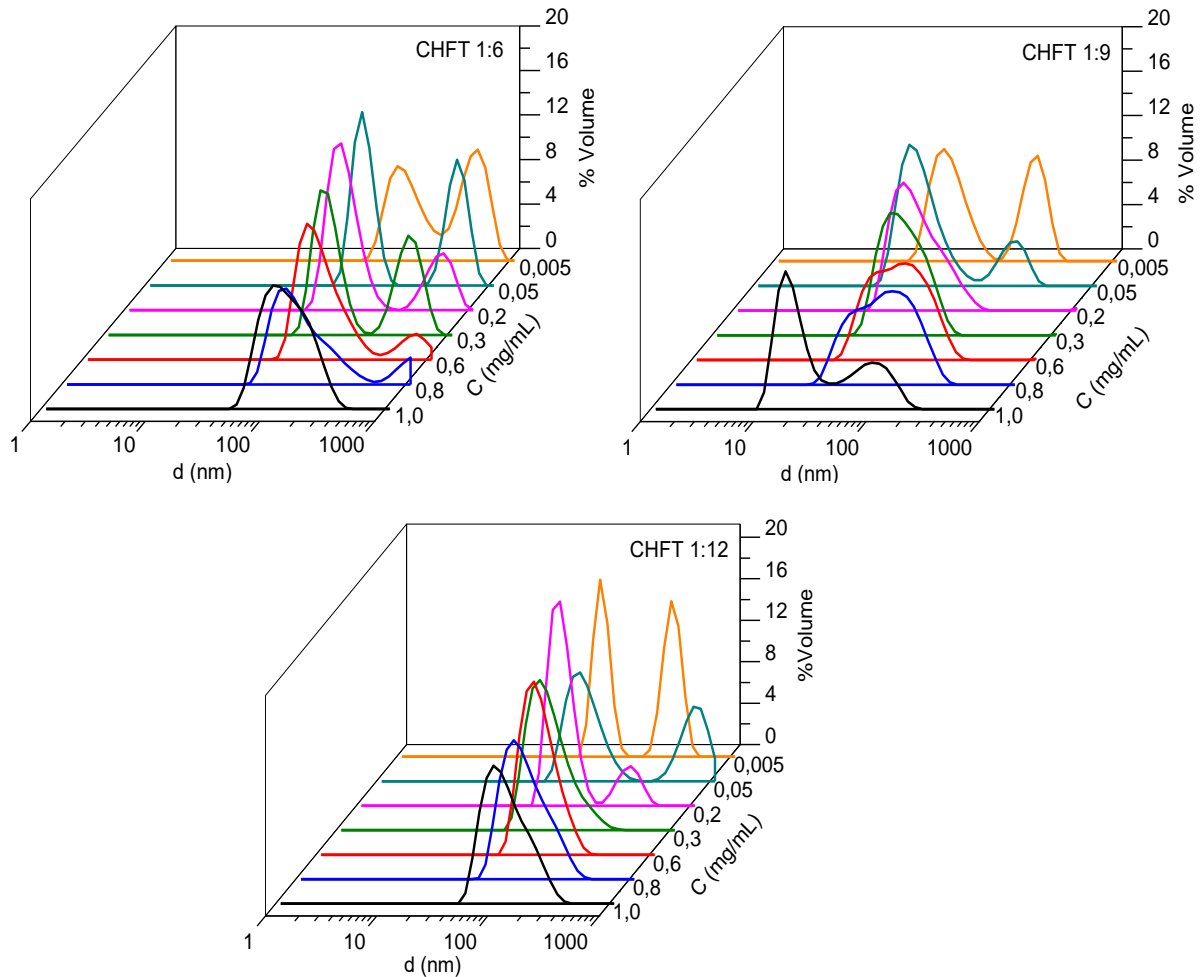
Figura 10 – Índice de polidispersão em função da concentração de derivado acilado e purificado para os sistemas nanoparticulados: CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.



Para as NP de CHFTP 1:9 não se observa uma tendência de aumento ou diminuição do valor de IPd com o aumento da concentração, os valores apenas flutuam entre 0,4 e 0,5, majoritariamente. Para as NPs de CHFTP 1:12 o valor de IPd aumenta em concentrações maiores para um valor limite dentro do aceitável para sistemas adequados para análise por espalhamento dinâmico de luz ($IPd < 0,7$), mostrando que o aumento da concentração leva a sistemas mais desorganizados para esse derivado.

O efeito da concentração na formação das nanopartículas também pode ser avaliado pelas curvas de distribuição de tamanho para as nanopartículas obtidas a partir dos derivados acilados, mostradas na Figura 11.

Figura 11 – Curvas de distribuição de tamanho em função da concentração de derivado acilado para os sistemas nanoparticulados: CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.

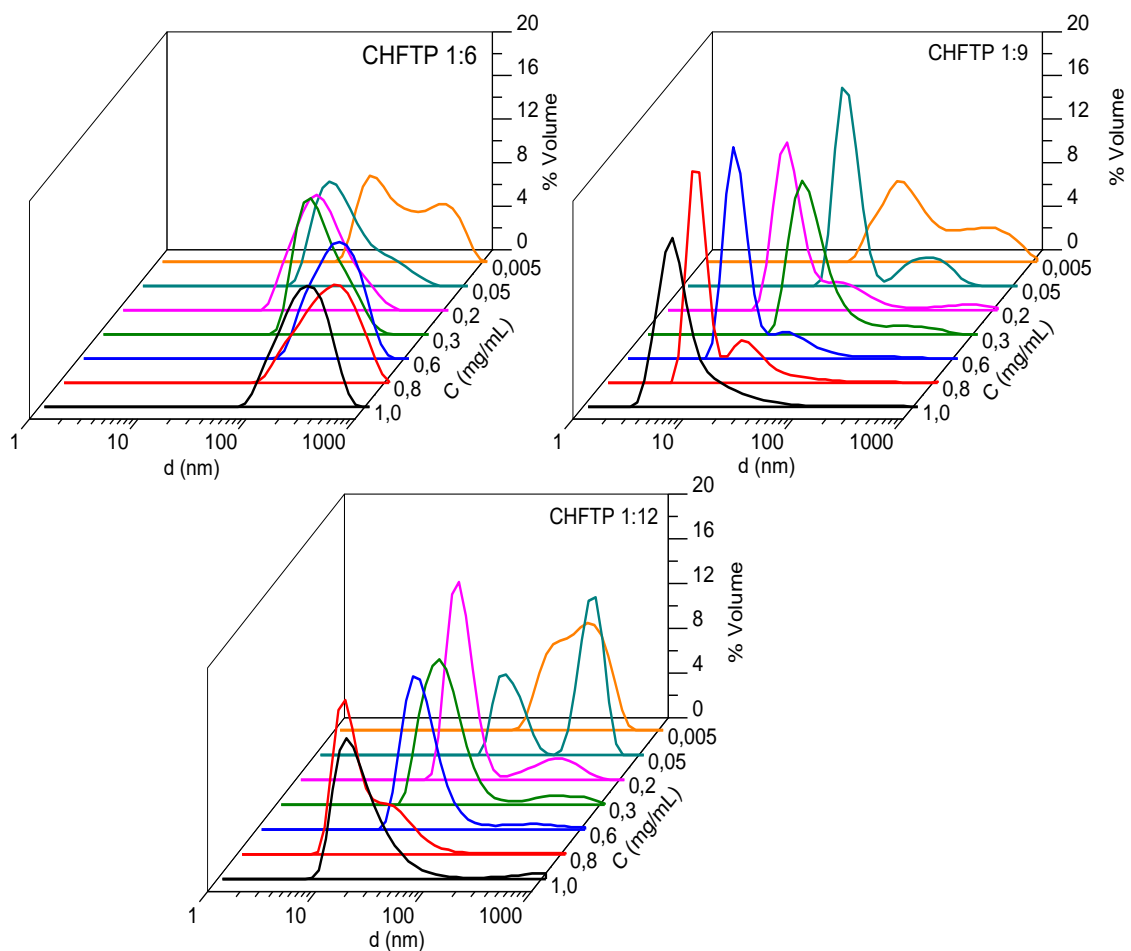


Para as NPs formadas a partir do derivado CHFT 1:6, observou-se uma maior organização em concentrações superiores a 0,6 mg/mL. Contudo, somente o sistema com maior concentração do derivado (1,0 mg/mL) apresentou um distribuição unimodal. As curvas de distribuição de tamanho para as nanopartículas CHFT 1:9, mostram que a partir da concentração de 0,2 mg/mL já é possível observar comportamento unimodal. Esse comportamento se mantém até à concentração de 0,8 mg/mL porém, na concentração de 1,0 mg/mL observa-se uma desorganização do sistema, que apresenta duas distribuições de tamanho. Para as NPs CHFT 1:12,

observa-se um comportamento unimodal a partir da concentração 0,3 mg/mL e perfis de distribuição bem mais estreitos e uniformes do que os observados para as nanopartículas de CHFT 1:6 e CHFT 1:9.

O efeito da concentração de derivado no perfil das curvas de distribuição de tamanho também foi avaliado para as nanopartículas obtidas a partir dos derivados acilados após a purificação, como mostrado na Figura 12.

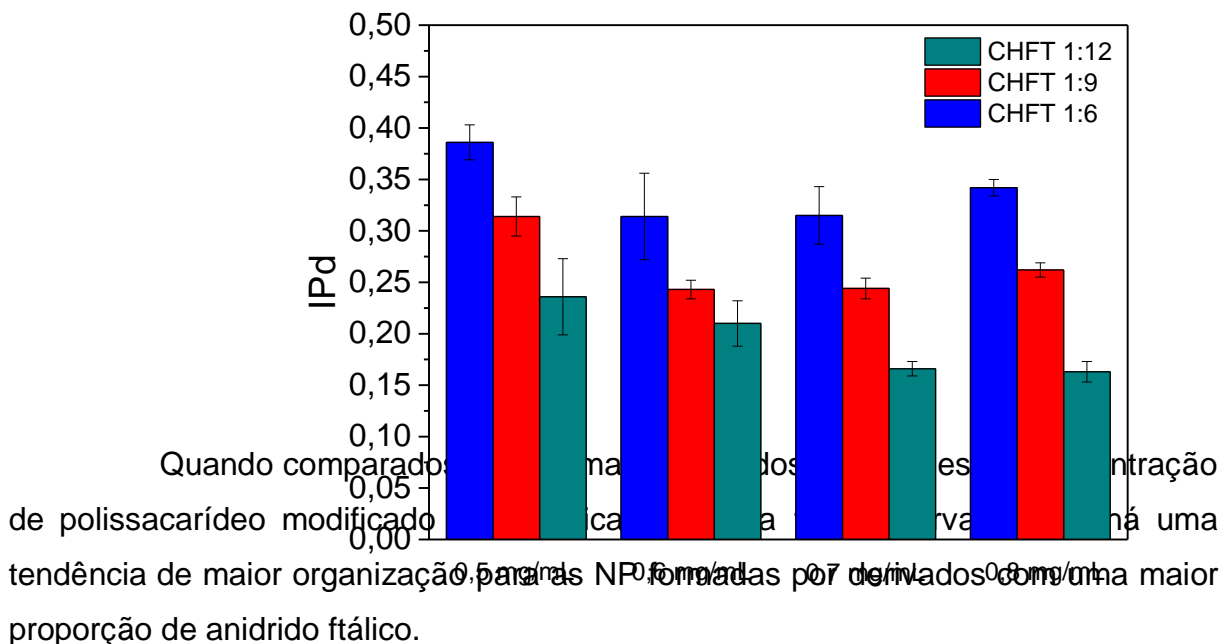
Figura 12 – Curvas de distribuição de tamanho em função da concentração de derivado acilado e purificados para os sistemas nanoparticulados: CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.



Para o sistema obtido com o derivado CHFTP 1:6 observa-se uma organização a partir da concentração 0,3 mg/mL, quando observa-se uma diminuição do IPd (0,211). Para esses sistemas, obteve-se tamanhos variando entre 50,1 e 368,2 nm, porém os únicos sistemas que apresentaram um única distribuição de tamanho foram os com concentração 1,0 mg/mL e 0,7 mg/mL com tamanhos de 299,3 e 334,5 nm, respectivamente.

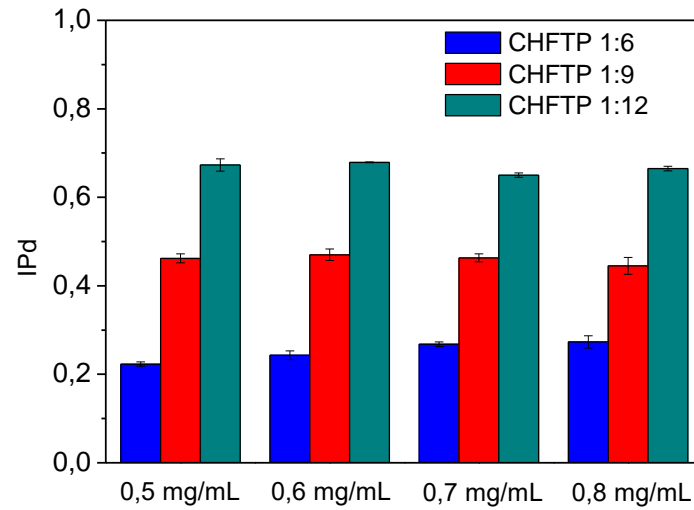
Como indicado pelo IPd, os sistemas formados pelo derivado CHFTP 1:9 formaram sistemas desorganizados para as concentrações estudadas, quando comparados aos sistemas formados pelo derivado CHFTP 1:6. Os sistemas produzidos com o derivado CHFTP 1:9 apresentaram distribuição de tamanho multimodal para todas as concentrações avaliadas, variando entre 7,5 e 135,0 nm. O mesmo, quanto a natureza das distribuições de tamanho, foi observado para os sistemas formados pelo derivado purificado CHFTP 1:12, onde obteve-se sistemas multimodais para todas as concentrações testadas, com tamanhos variando entre 24,6 e 197,1 nm.

Figura 13 – Efeito da razão molar Goma:Anidrido no IPd das nanopartículas de CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.



Efeito inverso é observado quando comparados os derivados purificados (Figura 14). Para os derivados purificados o aumento da razão anidrido:goma produziu sistemas mais polidispersos (maior IPd). O derivado CHFTP 1:6 é o que apresenta menores valores de IPd para os sistemas estudados produzidos a partir dos derivados purificados.

Figura 14 – Efeito da razão molar Goma:Anidrido no IPd das nanopartículas de CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.



As Tabelas 3 e 4 resumizam os valores de tamanho de partícula e índice de polidispersão das NPs obtidas a partir dos derivados acilados em diferentes concentrações.

Tabela 3 – Valores de IPd, e tamanho de partícula e suas respectivas porcentagens em volume para as nanopartículas CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12, obtidas em diferentes concentrações de derivado acilado.

CHFT 1:6			
C (mg/mL)	d (nm)	% Volume	IPd
1,0	149,5 ± 3,6	80,6 ± 16,1	0,276 ± 0,018
0,8	138,3 ± 2,9	63,7 ± 8,7	0,342 ± 0,008
0,7	131,9 ± 15,7	84,8 ± 5,2	0,319 ± 0,039
0,6	124,8 ± 1,2	82,4 ± 6,2	0,315 ± 0,059
0,5	157,6 ± 33,7	91,3 ± 6,8	0,387 ± 5,091
0,3	94,74 ± 9,5	64,8 ± 5,4	0,405 ± 0,064
0,2	83,61 ± 6,1	76,7 ± 9,8	0,470 ± 0,045
0,05	85,61 ± 5,2	54,6 ± 4,8	0,507 ± 0,029
0,01	575,0 ± 2,8	59,5 ± 2,0	0,553 ± 0,039
0,005	126,1 ± 7,9	49,8 ± 13,2	0,426 ± 0,032

CHFT 1:9			
C (mg/mL)	d (nm)	% Volume	IPd
1,0	167,2 ± 94,6	59,4 ± 27,6	0,443 ± 0,074
0,8	232,4 ± 23,4	97,3 ± 3,7	0,266 ± 0,001
0,7	252,3 ± 8,3	100 ± 0,0	0,244 ± 0,010
0,6	225,1 ± 10,7	98,3 ± 2,5	0,238 ± 0,006
0,5	161,1 ± 2,3	92,4 ± 1,6	0,314 ± 0,019
0,3	148,2 ± 0,9	91,5 ± 3,8	0,315 ± 0,026
0,2	133,2 ± 11,5	94,3 ± 5,6	0,364 ± 0,048
0,05	91,3 ± 6,5	77,9 ± 3,6	0,418 ± 0,063
0,01	81,1 ± 0,4	72,4 ± 3,9	0,413 ± 0,064
0,005	96,5 ± 12,9	58,3 ± 5,0	0,516 ± 0,061

CHFT 1:12			
C (mg/mL)	d (nm)	% Volume	IPd
1,0	126,5 ± 1,0	100 ± 0,0	0,140 ± 0,005
0,8	124,7 ± 2,6	100 ± 0,0	0,163 ± 0,010
0,7	132,7 ± 1,4	99,2 ± 1,4	0,166 ± 0,007
0,6	108,6 ± 1,2	97,6 ± 2,1	0,210 ± 0,022
0,5	110,5 ± 5,0	96,3 ± 3,5	0,236 ± 0,037
0,3	89,1 ± 0,4	90,9 ± 7,3	0,308 ± 0,004
0,2	75,7 ± 6,8	83,4 ± 1,0	0,379 ± 0,070
0,05	76,9 ± 0,2	67,0 ± 7,8	0,514 ± 0,126
0,01	82,9 ± 2,3	59,8 ± 11,1	0,428 ± 0,037
0,005	308,5 ± 71,3	51,2 ± 9,7	0,575 ± 0,122

Tabela 4 – Valores de IPd, e tamanho de partícula e suas respectivas porcentagens em volume para as nanopartículas CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12, obtidas em diferentes concentrações de derivado acilado purificado.

CHFTP 1:6			
C (mg/mL)	d (nm)	% Volume	IPd
1,0	299,3 ± 0,1	100,0 ± 0	0,200 ± 0,006
0,8	368,2 ± 29,8	97,4 ± 3,7	0,273 ± 0,014
0,7	334,5 ± 3,1	100,0 ± 0	0,268 ± 0,005
0,6	269,4 ± 14,4	80,9 ± 23,2	0,243 ± 0,010
0,5	103,8 ± 0,5	39,4 ± 0,6	0,223 ± 0,005
0,3	127,6 ± 1,6	81,7 ± 22,1	0,211 ± 0,001
0,2	102,4 ± 19,6	96,6 ± 3,0	0,328 ± 0,003
0,05	109,3 ± 7,3	91,1 ± 4,2	0,326 ± 0,010
0,01	107,9 ± 6,4	40,3 ± 7,3	0,438 ± 0,020
0,005	50,10 ± 3,8	42,5 ± 8,1	0,379 ± 0,004

CHFTP 1:9			
C (mg/mL)	d (nm)	% Volume	IPd
1,0	22,2 ± 18,2	93,8 ± 7,3	0,516 ± 0,005
0,8	7,5 ± 0,3	71,4 ± 2,5	0,445 ± 0,019
0,7	8,8 ± 4,6	71,5 ± 19,0	0,463 ± 0,009
0,6	12,4 ± 2,8	82,5 ± 0,4	0,470 ± 0,013
0,5	23,6 ± 14,4	82,7 ± 15,1	0,462 ± 0,010
0,3	35,9 ± 7,6	97,1 ± 1,7	0,458 ± 0,001
0,2	38,3 ± 22,5	95,8 ± 0,8	0,607 ± 0,036
0,05	29,9 ± 2,7	76,2 ± 3,4	0,412 ± 0,003
0,01	135,0 ± 62,0	51,2 ± 9,3	0,363 ± 0,035
0,005	78,4 ± 13,9	62,5 ± 6,8	0,514 ± 0,055

CHFTP 1:12			
C (mg/mL)	d (nm)	% Volume	IPd
1,0	25,2 ± 1,4	93,0 ± 1,3	0,753 ± 0,001
0,8	24,6 ± 4,5	93,2 ± 3,5	0,665 ± 0,005
0,7	30,1 ± 2,3	94,3 ± 0,6	0,650 ± 0,005
0,6	41,6 ± 1,1	87,4 ± 3,0	0,679 ± 0,001
0,5	31,6 ± 0,7	94,8 ± 1,2	0,673 ± 0,014
0,3	38,7 ± 6,9	92,3 ± 1,0	0,500 ± 0,074
0,2	31,4 ± 4,6	87,4 ± 6,4	0,400 ± 0,011
0,05	370,1 ± 20,2	62,5 ± 4,1	0,514 ± 0,018
0,01	169,0 ± 63,4	56,7 ± 16,0	0,338 ± 0,031
0,005	197,1 ± 38,0	98,6 ± 2,0	0,447 ± 0,040

4.2.2 Potencial Zeta ($P\zeta$)

Os valores de potencial zeta para as nanopartículas formadas a partir de diferentes concentrações dos derivados acilados não purificados são mostrados na Tabela 5.

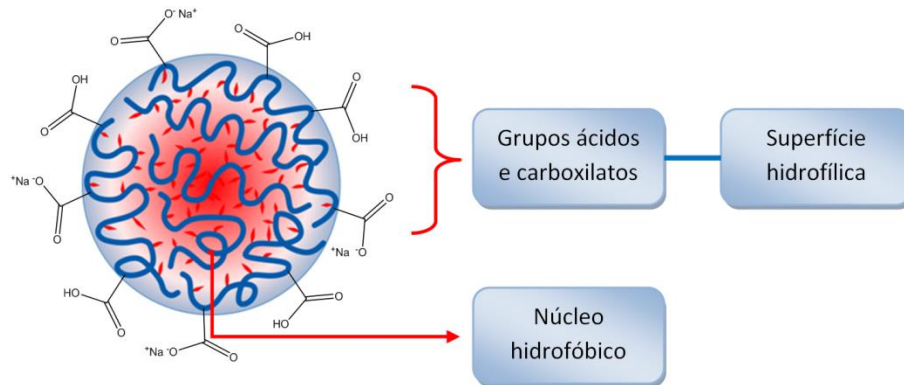
Tabela 5 – Valores de potencial zeta para as nanopartículas obtidas em diferentes concentrações de polissacarídeo acilado não purificado para os derivados CHFT 1:6, CHFT 1:9 e CHFT 1:12.

C (mg/mL)	P ζ (mV)		
	CHFT 1:6	CHFT 1:9	CHFT 1:12
1,0	-19,7 \pm 0,6	-27,3 \pm 0,8	-24,4 \pm 1,0
0,8	-19,5 \pm 1,2	-26,5 \pm 0,9	-21,4 \pm 1,0
0,7	-18,4 \pm 0,5	-24,8 \pm 2,1	-16,6 \pm 0,8
0,6	-19,5 \pm 0,6	-24,7 \pm 2,7	-19,1 \pm 1,0
0,5	-20,8 \pm 0,7	-22,9 \pm 1,7	-20,4 \pm 1,2
0,3	-19,3 \pm 1,0	-22,3 \pm 0,9	-20,4 \pm 0,3
0,2	-14,2 \pm 1,9	-18,6 \pm 0,4	-20,9 \pm 1,2
0,05	-16,5 \pm 1,6	-20,1 \pm 1,1	-17,9 \pm 0,9
0,01	-13,8 \pm 1,3	-12,6 \pm 0,6	-14,0 \pm 1,9
0,005	-19,7 \pm 0,3	-16,4 \pm 0,6	-19,6 \pm 1,0

Os valores de potencial zeta para todas as nanopartículas e em toda a faixa de concentração mostraram-se negativos. As nanopartículas apresentam domínios hidrofílicos devido ao polissacarídeo e domínios hidrofóbicos pela presença dos grupos ftalato. Após o processo de diálise, as partículas se mantêm dispersas mesmo em água. Portanto, espera-se que a parte mais hidrofóbica do polissacarídeo esteja orientada para a parte mais interna da nanopartícula, enquanto que a porção mais hidrofílica esteja orientada para a parte mais externa da nanopartícula. Assim os grupos ftalato se direcionam para o interior da partícula e os grupos carboxilatos ou ácidos carboxílicos presentes no CH se orientam para a camada externa. O grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$) conferem carga negativa à superfície da partícula refletida nos valores de potencial zeta como mostrado na Figura 15.

O derivado obtido com maior concentração de anidrido ftálico levou à formação das nanopartículas com menor valor de P ζ e as nanopartículas obtidas com os derivados de razão 1:9 foram as que apresentaram maior valor em módulo de potencial zeta.

Figura 15 – Esquema de nanopartícula obtida a partir de polissacarídeo carregado negativamente e hidrofobizado.



Fonte: O próprio autor.

A Tabela 6 mostra os valores de potencial zeta para as nanopartículas obtidas a partir dos derivados acilados purificados.

Tabela 6 – Valores de potencial zeta para as nanopartículas obtidas em diferentes concentrações de polissacarídeo acilado purificado para os derivados CHFTP 1:6, CHFTP 1:9 e CHFTP 1:12.

C (mg/mL)	Pζ (mV)		
	CHFTP 1:6	CHFT 1:9	CHFTP 1:12
1,0	-37,3 ± 0,0	-40,0 ± 0,5	-38,3 ± 0,1
0,8	-43,0 ± 0,2	-40,5 ± 1,2	-33,8 ± 1,0
0,7	-42,0 ± 0,4	-43,3 ± 0,2	-35,9 ± 1,1
0,6	-39,9 ± 0,6	-44,5 ± 0,6	-34,6 ± 1,6
0,5	-39,0 ± 1,4	-38,5 ± 0,3	-39,2 ± 2,5
0,3	-36,3 ± 0,8	-41,1 ± 3,1	-32,3 ± 0,1
0,2	-25,1 ± 0,2	-30,9 ± 0,1	-29,9 ± 0,1
0,05	-19,3 ± 0,6	-33,1 ± 0,7	-23,1 ± 1,5
0,01	-13,1 ± 0,7	-25,9 ± 0,6	-16,5 ± 3,3
0,005	-18,3 ± 0,3	-29,8 ± 0,2	-18,8 ± 0,5

Após a purificação, os valores de potencial zeta mostraram-se bem mais negativos de que àqueles observados para as nanopartículas dos derivados não purificados, porém o derivado com razão 1:9 leva a nanopartículas com maior valor de Pζ. A presença de resíduo reacional pode atuar como blindagem para as cargas na superfície da nanopartícula, uma vez removido esse resíduo as cargas negativas tornam-se mais expostas, tornando o potencial zeta mais negativo.

5 CONCLUSÕES

Derivados de goma do chichá e anidrido ftálico foram obtidos as diferentes razões goma: anidrido levando à formação de nanopartículas com variados tamanhos e índices de polidispersão. A purificação do material levou a mudanças nas nanopartículas produzidas nas mesmas condições. Dentre as nanopartículas obtidas com derivados não purificados àquelas obtida com o derivado CHFT 1:12 na concentração de 1,0 mg/mL apresentou distribuição de tamanho unimodal, baixo índice de polidispersividade e tamanho de 126,5 nm. Para as nanopartículas obtidas com os derivados purificados àquelas obtidas com o derivado CHFTP 1:6 na concentração de 1,0 mg/mL apresentou distribuição de tamanho unimodal, baixo índice de polidispersividade (0,200) e tamanho de 299,9nm.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa, p. 464, 1989.
- AKIYOSHI, K., KOBAYASHI, S., SHICHIBE, S., MIX, D., BAUDYS, M., KIM, S. W. SUNAMOTO, J. Self-assembled hydrogel nanoparticle of cholesterol-bearing pullulan as a carrier of protein drugs: Complexation and stabilization of insulin. **Journal of Controlled Release**, v. 54, 313, 1998.
- AKIYOSHI, K., TANIGUCHI, I., FUKUI, H., SUNAMOTO. Hydrogel nanoparticle formed by self-assembly of hydrophobized polysaccharide, stabilization of adriamycin by complexation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 42, 286, 1996.
- Árvores. Disponível em :<<http://arvores.brasil.nom.br/new/chicha/index.htm>>. Acesso em 15 outubro de 2014.
- ASCHENBRENNER, E., BLEY, K., KOYNOV, K., MAKOWSKI, M., KAPPL, M., LANDFESTER, K., WEISS, C. K. Using the polymeric Ouzo effect for the preparation of polysaccharide-based nanoparticles. **Langmuir**, v. 29, 8845, 2013.
- AUMELAS, A., SERRERO, A., DURAND, A., DELLACHERIE, E., LEONARD, M. Nanoparticles of hydrophobically modified dextrans as potential drug carrier systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerface**, v. 59, 74, 2007.
- AZEVEDO, M. M. Nanoesferas e a Liberação Controlada de Fármacos. Monografia - **Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp**, 2002.
- BI, L., CAO, Z., HU, Y., SONG, Y., YU, L., YANG, B., MU, J., HUANG, Z., HAN, Y. Effects of different cross-linking conditions on the properties of genipin-cross-linked chitosan/collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, 51, 2011.
- BRITO, A. C. F., SILVA, D. A., DE PAULA, R. C. M., FEITOSA, J. P. A. *Sterculia striata* exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with *Sterculia urens* (Karaya) polysaccharide. **Polymer International**, v. 53, 1025, 2004.
- CANSELL, M., PARISEL, C., JOZEFONVICZ, J., LETOURNEUR, D. Liposomes coated with chemically modified dextran interact with human endothelial cells. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 44, 104, 1999.
- COLTHUP, N. B., Spectra-Structure Correlations in the Infra-Red Region. **Journal of the Optical Society of America**, v. 40, 397, 1950.
- EIRAS, C., PASSOS, I. N. G., BRITO, A. C. F., SANTOS JR., J. R., ZUCOLOTTO, V., OLIVEIRA JR., O. N., KITAGAWA, I. L., CONSTANTINO, C. J. L., CUNHA, H. N.

Nanocompósitos eletroativos de poli-o-metoxianilina e polissacarídeos naturais. **Química Nova**, v. 30, 1158, 2007.

FOURNIER, C., LEONARD, M., DELLACHERIE, E., EPR spectroscopy analysis of hydrophobically modified dextran-coated polystyrene. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 198, 27, 1998.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E., RUPÉREZ, P. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, 1514, 2011.

HASSANI, L. N., HENDRA, F., BOUCHEMAL, K., Auto-associative amphiphilic polysaccharides as drug delivery systems. **Drug Discovery Today**, v. 17, 608, 2012.

HEINZE, T., LIEBERT, T., KOSCHELLA, A. **Esterification of Polysaccharides**. Heidelberg: Springer, 2006.

HORNIG, S., BUNJES, H., HEINZE, T. Preparation and characterization of nanoparticles based on dextran–drug conjugates. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 338, 56, 2009.

HORNING, S., HEINZE, T. Nanoscale structures of dextran esters. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, 280, 2007.

HORNING, S., HEINZE, T. Efficient approach to design stable water-dispersable nanoparticles of hydrophobic cellulose esters. **Biomacromolecules**, v. 9, 1487, 2008.

HWANG, H-Y, KIM, I-S, KWON, IC, KIM, Y-H. Tumor targetability and antitumor effect of docetaxel-loaded hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 128, 23, 2008.

JEON, H. J., JEONG, Y. I., JANG, M. K., PARK, Y. H., NAH, J. W. Effect of solvent on the preparation of surfactant free poly(dl-lactide-co-glycolide) nanoparticles and norfloxacin release characteristics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 207, 98, 2000.

JRC REFERENCE REPORTS. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/dgs/jrc/>> Acesso em 15 outubro de 2014.

JUNG, S.-W., JEONG, Y.-I., KIM, S.-H., Characterization of hydrophobized pullulan with various hydrophobicities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 254, 109, 2003.

KOSTOG, M., KOHLER, S., LIEBERT, T., HEINZE, T. Pure cellulose nanoparticles from trimethylsilylcellulose. **Macromolecular Symposia**, v. 294, 96, 2010.

LE CERF, D., IRINEI, F., MULLER, G. Solution properties of gum exudates from *Sterculia urens* (Karaya gum). **Carbohydrate Polymers**, v. 13, 375, 1990.

- LEE, S. J., HONG, G.-Y., JEONG, Y., KANG, M-S, OH, J.-S., SONGD, C.-E., LEE, H. C. Paclitaxel-incorporated nanoparticles of hydrophobized polysaccharide and their antitumor activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 433, 121, 2012.
- LEMARCHAND, C., GREF, R., COUVREUR, P., Polysaccharide-decorated nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, 327, 2004.
- LETCHFORD, K., BURT, H., A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, 259, 2007.
- LETOURNEUR, D., PARISEL, C., PRIGENT-RICHARD, S., CANSSELL, M. Interactions of functionalized dextran-coated liposomes with vascular smooth muscle cells. **Journal of Controlled Release**, v. 65, 83, 2000.
- LIU, Z., JIAO, Y., WANG, Y., ZHOU, C., ZHANG, Z., Polysaccharide-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, 1650, 2008.
- LUCERO, M. J., CLARO, C., CASAS, M., JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M. R. Drug diffusion from disperse systems with a hydrophobically modified polysaccharide: Enhancer ® VS Franz cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, 149, 2013.
- MELO, J. C. P., SILVA FILHO, E. C., SANTANA, S. A. A., AIROLDI, C. Exploring the favorable ion-exchange ability of phthalylated cellulose biopolymer using thermodynamic data. **Carbohydrate Research**, v. 345, 1914, 2010.
- MOTOZATO, Y., IHARA, H., TOMODA, T., HIRAYAMA, C., Preparation and gel-permeation chromatographic properties of pullulan spheres. **Journal of Chromatography**, v. 355, 434. 1986.
- NA, K., LEE, E. S., BAE, Y. H. Adriamycin loaded pullulan acetate/sulfonamide conjugate nanoparticles responding to tumor pH: pH-dependent cell interaction, internalization and cytotoxicity in vitro. **Journal of Controlled Release**, v. 87, 3, 2003.
- NAH, J. -W. PAEK, Y. -W, JEONG, Y. -I, KIM, D. -W., CHO, C. -S., KIM, S. -H., KIM, M. -Y. Clonazepam release from Poly(DL-lactide-co-glycolide) Nanoparticles prepared by dialysis method. **Archives of Pharmacal Research**, v. 21, 418, 1998.
- NICHIFOR, M., LOPES, A., CARPOV, A., MELO, E. Aggregation in water of dextran hydrophobically modified with bile acids. **Macromolecules**, v. 32, 7078, 1999.
- PARK, K., KIM, K., KWON, I.C., KIM, S.K., LEE, S. LEE, D.Y. BYUN, Y. Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles of heparin-deoxycholic acid conjugates. **Langmuir**, v. 20, 1726, 2004.
- PARK, W., PARK, S.-J., & NA, K. Potential of self-organizing nanogel with acetylated chondroitin sulfate as an anti-cancer drug carrier. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, 501, 2010.

PAWAR, S. N., EDGAR, K. J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**, v. 33, 3279, 2012.

PITOMBEIRA VERAS, N. A. O., NETO, J. G., SILVA, D. A., FEITOSA, J. P. A., PAULA, H. C. B. DE PAULA, R. C. M. Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, 610, 2015.

PRETSCH, E., BÜHLMANN, P., BADERTSCHER, M. Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectra Data. Heidelberg: Springer, 2009.

ROUZES, C., GREF, R., LEONARD, M., DELGADO, A. D., DELLACHERIE, E., Surface modification of poly(lactic acid) nanospheres using hydrophobically modified dextrans as stabilizers in an o/w emulsion/evaporation technique. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.50, 557, 2000.

SHI, J., ZHANG, Z., QI, W., & CAO, S. Hydrophobically modified biomineralized polysaccharide alginate membrane for sustained smart drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, 747, 2012.

SILVA, D. A., BRITO, A. C. F., PAULA, R. C. M., FEITOSA, J. P. A., PAULA, H.C. B. Effect of mono and divalent salts on gelation of native, Na and deacetylated *Sterculia striata* and *Sterculia urens* polysaccharide gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 229, 2003.

SOLEYMAN, R., ADELI, M. Impact of dendritic polymers on nanomaterials. **Polymer Chemistry**, v. 6, 10, 2015

STASIAK, J., ZAFFORA, A., COSTANTINO, M. L., MOGGRIDGE, G. D. A real time SAXS study of oriented block copolymers during fast cyclical deformation, with potential application for prosthetic heart valves. **Soft Matter**, v. 7, 11475, 2011.

YADAV, H. K. S., NAGAVARMA, B. V. N., AYAZ, A., L. S., VASUDHA, SHIVAKUMAR, H. G. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles-a review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 5, 16, 2012.

ZAMPA, M. F., BRITO, A. C. F., KITAGAWA, I. L. CONSTANTINO, C. J. L., OLIVEIRA JR., O. N., CUNHA, H. N., ZUCOLOTTI, V., SANTOS JR., J. R., EIRAS, C. Natural gum-assisted phthalocyanine immobilization in electroactive nanocomposites: physicochemical characterization and sensing applications, **Biomacromolecules**, v. 8, 3408, 2007.

ZENG, Z., PATEL, J., LEE, S.-H., McCALLUM, M., TYAGI, A., YAN, M., SHEA, K. J., Synthetic polymer nanoparticle-polysaccharide interactions: a systematic study. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, 2681, 2012.

ZHANG, C., CHUNG, J. W., PRIESTLEY, R. D. Dialysis Nanoprecipitation of Polystyrene Nanoparticles. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 33, 1798, 2012.

ZHANG, H-Z, GAO, F-P., LIU, L-R, LI X-M., ZHOU, Z-M., YANG, X-D., ZHANG, Q-Q.
Pullulan acetate nanoparticles prepared by solvent diffusion method for epirubicin
chemotherapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 71, 19, 2009.