



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

FERNANDA MATOSO SOMBRA

NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*) VIA COMPLEXAÇÃO ELETROLÍTICA PARA O ENCAPSULAMENTO DE PRIMAQUINA

FORTALEZA

2013

FERNANDA MATOSO SOMBRA

NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*) VIA COMPLEXAÇÃO ELETROLÍTICA PARA O ENCAPSULAMENTO DE PRIMAQUINA

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

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

FORTALEZA

2013

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)

S676n Sombra, Fernanda Matoso.

Nanopartículas de Quitosana e Goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) via complexação eletrolítica para o encapsulamento de primaquina. / Fernanda Matoso Sombra. – 2013.

61 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2013.

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

1. Nanopartículas. 2. Complexação polieletrólítica. 3. Primaquina. I. Título.

CDD 540

FERNANDA MATOSO SOMBRA

NANOPARTICULAS DE QUITOSANA E GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale*) VIA COMPLEXAÇÃO ELETROLÍTICA PARA O ENCAPSULAMENTO DE PRIMAQUINA.

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

Aprovada em: 31/07/2013.

BANCA EXAMINADORA

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

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

Prof. Dra. Selene Maia de Moraes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

À minha mãe, pelo amor incondicional,
ajuda e amparo em toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus por toda minha vida, pelas conquistas, saúde e proteção.

Aos meus pais, pelo apoio, carinho e conselhos durante todas as fases da minha vida.

Ao Allan, meu esposo, pela confiança, amor e apoio em todas as decisões tomadas.

À minha irmã e amiga Ana Célia pelo carinho, conselhos e amparo em todos os momentos.

Ao professor Haroldo Paula pela orientação e oportunidades desde a graduação.

Ao laboratório de Química de Biopolímeros (LABIOPOL), e a todos os amigos lá presentes que me ajudaram durante esses anos: Menta, Vanessa, Maria, Laury e Erick.

Ao laboratório de Polímeros (LABPOL), pelo apoio na realização de vários experimentos e à professora Regina pelo apoio e co-orientação.

A Elis pelas análises de infravermelho e por sua atenção sempre.

Às minhas amigas Flávia, Menta, Renata, Lair e ao meu amigo Wellington pelas horas de estudo, pelo conselhos e momentos de descontração em todos esses anos.

Aos professores e funcionários dos Departamentos de Química da UFC por todo o apoio.

“Quanto mais duro é o combate, mas se
aprecia a vitória.” (Edell Quinn)

RESUMO

Nanopartículas de quitosana (QT) e goma do cajueiro (GC) foram sintetizadas por complexação polieletrólítica. Foram investigados alguns parâmetros que influenciam o tamanho das nanopartículas tais como: concentração dos polieletrólitos, ordem de adição das soluções poliméricas e razão de cargas dos polieletrólitos. Preparou-se nanopartículas com as seguintes razões de cargas n^+/n^- : 0,2, 0,5, 1,0, 5,0, 10, 15 e 20 sendo caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e na região do UV/VIS, análise térmica, tamanho e distribuição de partículas e potencial zeta. O espectro do FTIR mostrou as principais bandas da QT e GC, em 1550 e em 1647 cm^{-1} . Para as nanopartículas de QT em GC, o potencial zeta variou de -2,25 mV a +28 mV, observando-se que quanto maior a razão de cargas n^+/n^- maior e mais estável é o potencial zeta. O fármaco foi incorporado inicialmente em três matrizes diferentes nas razões de cargas n^+/n^- 0,5, 1,0 e 10. No método de incorporação e liberação da primaquina (Pr) utilizou-se tripolifostato de sódio (TPP) como agente reticulante e apenas as nanopartículas com carga superficial positiva foram escolhidas para a incorporação da Pr devido à possibilidade de interação dessas cargas positivas com as cargas negativas do TPP formando um gel após a centrifugação. Com isso, a Pr foi incorporada nos CPEs QTGC 1,0, 5,0 e 10 todos com carga superficial positiva. Dentre as amostras incorporadas a QTGC-Pr 10 apresentou a maior eficiência de encapsulamento, 32%, para a razão QT:TPP 2:1. O gel apresentou partículas com tamanho de 800 nm, bem superior ao tamanho das partículas antes da adição do TPP que eram de 17,4 nm. O potencial zeta diminuiu de + 26 mV para 0,03 mV indicando a neutralização das cargas positivas do CPE pelas cargas negativas do TPP. O espectro de infravermelho mostrou as principais bandas de interação entre os grupos positivos da QT e os grupos negativos do TPP. O gel apresentou um teor de encapsulamento de 9,35%. A cinética de liberação foi realizada em tampão fosfato pH 1,2 e 7,4 a 37°C. Observou-se que a liberação em tampão 1,2 foi mais lenta que em tampão 7,4 liberando 52% em aproximadamente 100 horas de ensaio, enquanto que em pH= 7,4 a estabilidade foi alcançada em aproximadamente 70 horas de ensaio, liberando 65% do fármaco. O estudo cinético para os perfis de liberação estudados indicou que a liberação segue o modelo de Higuchi.

Palavras-chave: Nanopartículas. Complexação polieletrólítica. Primaquina.

ABSTRACT

Chitosan nanoparticles (QT) and cashew gum (CG) were synthesized by complexation polyelectrolytic. We investigated some parameters that influence the size of nanoparticles such as: concentration of polyelectrolytes, order of addition of polymer solutions and loads of polieletrólitos reason. Was synthesized nanoparticles with the following ratios of loads n^+/n^- : 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10, 15 and 20. The nanoparticles were characterized by infrared spectroscopy (FTIR) and by UV / VIS, particle size and zeta potential. The FTIR spectrum showed main bands of chitosan and cashew gum in 1550 and 1647 cm^{-1} . To nanoparticles QT GC, zeta potential ranged from -2.25 mV to +28 mV, observing that the higher the ratio of charge n^+/n^- higher and more stable is the zeta potential. The drug was initially incorporated in three different matrices in the ratios of loads n^+/n^- 0.5, 1.0 and 10. However, the method of incorporation and release of primaquine was used as a crosslinking agent and TPP nanoparticles with only positive surface charge were chosen for the incorporation of primaquine due to the possibility of interaction of positive charges with the negatively charged TPP forming a gel after centrifugation. Therefore, primaquine was incorporated in CPEs QTGC 1.0, 5.0 and 10 all with positive surface charge. Among the specimens incorporated QTGC Pr-10 showed the highest encapsulation efficiency of 32%, for the reason QT: TPP 2:1. The gel obtained after centrifugation and redispersed dried and characterized. The gel presented size of 800 nm, and higher than the particle size prior to addition of TPP which was 17.4 nm. This increase in particle size was expected since the addition of TPP form aggregates. The zeta potential decreased from + 26 mV to 0.03 mV indicating the neutralization of charges by the CPE postivas negative charges of TPP. The infrared spectrum shows the main bands of interaction between groups of chitosan positive and negative groups of tripolyphosphate (TPP). The gel showed a content of 9.35% encapsulation. The release kinetics were performed in phosphate buffer pH 7.4 at 37° C. The release was relatively slow where only 14% of the drug was released in 50 hours of testing. The kinetic study of the release of primaquine indicated that the release follows the Higuchi model.

.

Keywords: Nanoparticles. Complexation polyelectrolytic. Primaquine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Micrografias eletrônicas de nanopartículas.....	14
Figura 2	– Representação esquemática de nanoesferas e nanocápsulas.....	15
Figura 3	– Representação esquemática da formação de um complexo polieletrólítico (CPE).....	16
Figura 4	– Unidades repetitivas da quitosana (1) e quitina (2).....	17
Figura 5	– Representação estrutural do tripolifosfato.....	18
Figura 6	– Árvore da <i>Anacardium occidentale</i> e o exsudato da árvore.....	19
Figura 7	– Estruturas das unidades monossacarídicas da composição da goma..	21
Figura 8	– Representação do polissacarídeo extraído do exsudato do cajueiro (B). (R = ramnose, arabinose).....	21
Figura 9	– Estrutura química da primaquina.....	22
Figura 10	– Curvas de calibração da primaquina em água, em tampão fosfato pH = 7,4 e tampão fosfato pH=1,2.....	29
Figura 11	– Espectro de infravermelho dos CPEs (QTGC), QT e GC.....	32
Figura 12	– Tamanho de partícula em função da concentração dos polieletrólitos..	34
Figura 13	– Perfil geral da distribuição por volume para os CPEs obtidos.....	35
Figura 14	– Efeito da ordem de adição para CPEs na concentração de 0,1%.....	35
Figura 15	– Valores de IPD para os CPEs de QTGC e GCQT na concentração de 0,1%.....	36
Figura 16	– Estudo da estabilidade dos complexos de QTGC em diferentes razões de carga n ⁺ /n ⁻	37
Figura 17	– Potencial zeta para os CPEs de QTGC e GCQT.....	39
Figura 18	– Curvas de dTG para os CPEs QTGC com diferentes razões de cargas n ⁺ /n ⁻ (A) e curvas termogravimétricas para as respectivas amostras (B).....	41
Figura 19	– DSC para os CPEs com diferentes razões de cargas n ⁺ /n ⁻	41

Figura 20 – Tubos de ensaio contendo alíquotas das amostras QTGC-Pr (1), com a adição do TPP (2) e após centrifugação (3).....	43
Figura 21 – Relação entre E.E % e razão n+/n- do CPE para as diferentes razões QT:TPP.....	45
Figura 22 – Tamanho de partícula obtido para as amostras QTGC 1,0, 5,0 e 10 nas diferentes razões QT:TPP.....	46
Figura 23 – Perfis de distribuição por volume para os CPEs incorporados: QTGC-Pr 1,0 (A); QTGC-Pr 5,0 (B) e QTGC-Pr 10 (C).....	47
Figura 24 – Relação entre o Potencial zeta e a razão n+/n- dos CPEs QTGC-Pr para as diferentes razões QT:TPP.....	48
Figura 25 – Espectros de infravermelho para o gel QTGC-Pr 10 (A), o CPE 10 (B) e primaquina (C).....	49
Figura 26 – Curvas de dTG para o CPE QTGC-10 e para GEL QTGC-Pr 10 (A) e curvas termogravimétricas para as respectivas amostras (B).....	51
Figura 27 – DSC para o CPE QTGC-10 e para o GEL QTGC-Pr.....	51
Figura 28 – Perfis de distribuição de tamanho de partícula (A) e potencial zeta (B) para a amostra QTGC-Pr 10 – GEL.....	53
Figura 29 – Perfil de liberação in vitro de primaquina em tampão pH=7,4 (A) e tampão pH=1,2 (B).....	53
Figura 30 – Modelo cinético de ordem zero. pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).....	55
Figura 31 – Modelo cinético de primeira ordem pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).....	55
Figura 32 – Modelo cinético de segunda ordem em pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).....	55
Figura 33 – Modelo cinético de Higuchi em pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).....	56
Figura 34 – Modelo cinético de Korsmeyer-Peppas em pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Composição da goma de cajueiro em diferentes regiões geográficas.....	20
Tabela 2	– Equações referentes às curvas de calibração da primaquina em água, pH=1,2 e pH=7,4.....	29
Tabela 3	– Atribuições de algumas bandas de absorção da QT, GC e dos CPEs.....	33
Tabela 4	– Efeito da concentração: QT 0,05% em GC 0,05% e QT 0,1% em GC 0,1%.....	34
Tabela 5	– Potencial zeta para os CPEs de QTGC e GCQT nas concentrações de 0,1%.....	38
Tabela 6	– Eventos térmicos da análise termogravimétrica para os CPEs de razão n+/n- 0,5, 1,0 e 10.....	40
Tabela 7	– Relação entre a E.E % e a razão QT:TPP para os CPE's de razão 1, 5 e 10.....	44
Tabela 8	– Valores de tamanho de partícula obtidos para as três amostras analisadas em diferentes razões QT:TPP.....	45
Tabela 9	– Valores do potencial zeta para o sobrenadante dos CPEs incorporados.....	48
Tabela 10	– Eventos térmicos da análise termogravimétrica para os CPEs de razão n+/n- 0,5, 1,0 e 10.....	50
Tabela 11	– Valores dos diâmetros e do potencial zeta das partículas antes e após a adição do TPP.....	52
Tabela 12	– Coeficientes de correlação para os modelos cinéticos estudados.....	54

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Quitosana.....	17
1.2	Goma do cajueiro.....	19
1.3	Primaquina.....	22
2	OBJETIVOS	24
2.1	Objetivo geral	24
2.1	Objetivos específicos.....	24
3	EXPERIMENTAL.....	25
3.1	Materiais	25
3.2	Preparo das soluções.....	25
3.3	Síntese de nanopartículas via complexação eletrolítica.....	25
3.4	Incorporação de primaquina.....	26
3.4.1	<i>Primaquina adicionada durante a formação dos CPEs (método indireto).....</i>	27
3.4.2	<i>Primaquina livre adicionada aos CPE's (método direto).....</i>	27
3.5	Caracterização dos produtos formados.....	28
3.5.1	<i>Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	28
3.5.2	<i>Análise do tamanho e da distribuição de partículas e potencial zeta.....</i>	28
3.5.3	<i>Análise térmica.....</i>	28
3.5.4	<i>Teor de primaquina encapsulada (T.E.) e eficiência de encapsulamento (E.E.).....</i>	28
3.5.5	<i>Ensaio de liberação in vitro.....</i>	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1	Síntese de nanopartículas de QTGC via complexação eletrolítica...	32
4.1.1	<i>Análise de infravermelho.....</i>	32
4.1.2	<i>Avaliação dos parâmetros que influenciam o tamanho das nanopartículas de QTGC.....</i>	33
4.1.2.1	<i>Efeito da concentração de QT e GC.....</i>	33

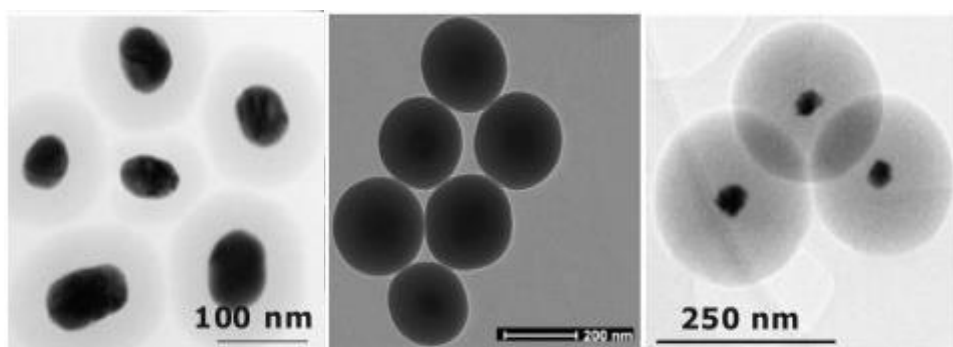
4.1.2.2	<i>Efeito da ordem de adição</i>	35
4.1.2.3	<i>Estudo de polidispersividade (IPD).....</i>	36
4.1.2.4	<i>Estudo da estabilidade dos CPEs com o tempo.....</i>	37
4.1.3	Potencial Zeta.....	38
4.1.4	Análise térmica.....	39
4.2	Incorporação e liberação de primaquina.....	42
4.2.1	Metodologia utilizada para incorporação da primaquina nos CPEs.	42
4.2.2	Teor de primaquina encapsulada e Eficiência de encapsulamento (E.E%).....	42
4.2.2.1	<i>Efeito da adição do TPP nos complexos polieletrólíticos com primaquina.....</i>	42
4.2.2.2	<i>Efeito da razão QT:TPP na eficiência de encapsulamento (E.E%).....</i>	43
4.2.2.3	<i>Efeito da razão QT:TPP no tamanho das partículas e no potencial zeta.</i>	45
4.2.3	Caracterização do GEL – QTGC-Pr 10.....	49
4.2.3.1	<i>Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	49
4.2.3.2	<i>Análise térmica.....</i>	50
4.2.3.3	<i>Teor de fármaco encapsulado (dopagem).....</i>	52
4.2.3.4	<i>Análise do tamanho de partícula e potencial zeta.....</i>	52
4.2.3.5	<i>Cinética de liberação in vitro.....</i>	53
5	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é a área da ciência que visa o desenvolvimento, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas com forma e tamanho na escala nanométrica (STYLIOS *et al.*, 2005). As nanopartículas foram inicialmente desenvolvidas em meados dos anos 70 com o objetivo de transportar substâncias nos organismos para melhorar a eficácia terapêutica e diminuir o efeito tóxico dessas substâncias carregadas (MONTASSER *et al.*, 2000). Diversos estudos foram realizados com o objetivo de encapsular e controlar a liberação do fármaco no organismo (KUMAR, 2000).

Nas ultimas décadas vem aumentando o interesse no desenvolvimento de nanopartículas biodegradáveis como sistemas de liberação de drogas. Esses sistemas melhoram a biodisponibilidade da droga, prolongam o tempo de residência do fármaco no organismo controlando sua liberação, diminuem a toxicidade e melhoram a estabilidade da droga (PINTO *et al.*, 2006). A Figura 1 apresenta micrografias eletrônicas de nanopartículas.

Figura 1 - Micrografias eletrônicas de nanopartículas.

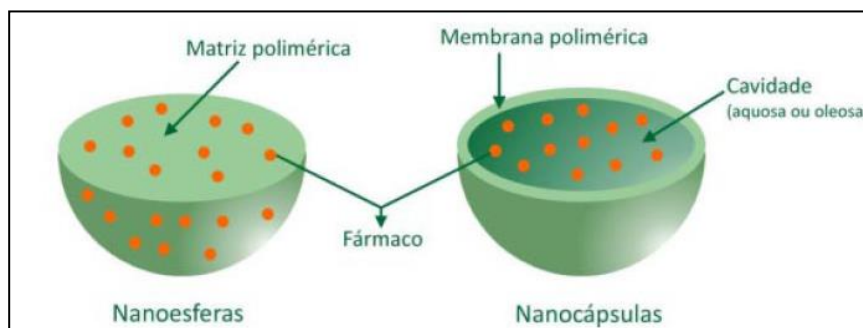


Fonte: Imec aspire invente achieve.

As nanopartículas poliméricas são sistemas coloidais com tamanho entre 10 e 1000 nm (RIEUX *et al.*, 2006). Elas podem ser classificadas como nanoesferas ou nanocápsulas onde o fator que as distingue é se o fármaco encontra-se dissolvido, encapsulado ou disperso. As nanocápsulas são sistemas em que o fármaco encontra-se no interior de uma cavidade aquosa ou oleosa circundada por uma membrana polimérica ou adsorvido nessa membrana. As nanoesferas são formadas por uma matriz polimérica onde o fármaco encontra-se adsorvido ou

disperso na membrana polimérica (ABDELWAHED *et al.*, 2006). Essa diferença pode observada na Figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática de nanoesferas e nanocápsulas.



Fonte: Biotecnologia clínica e desenvolvimento nº 37.

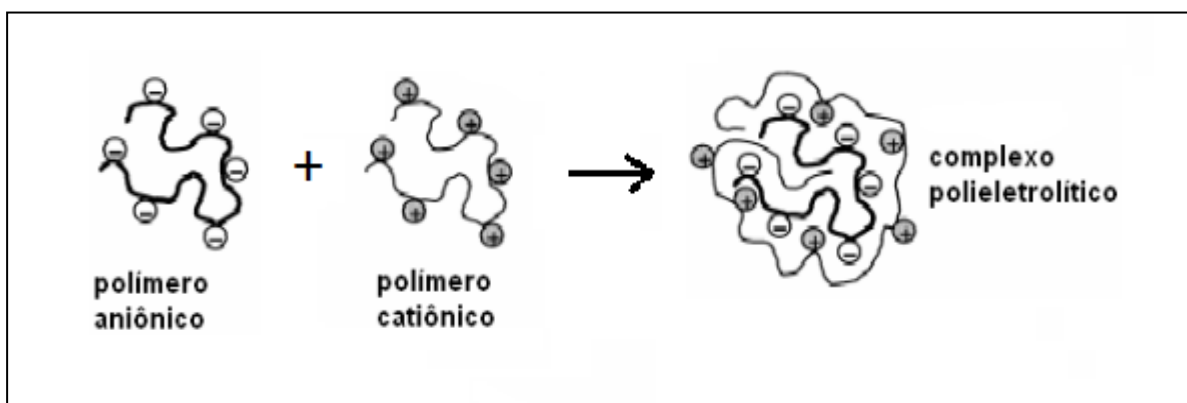
Muitos polímeros tem sido estudados para a produção de nanopartículas, (VAUTHIER *et al.*, 2003). A diversidade desses polímeros permite a seleção do carreador para a incorporação do fármaco mais apropriado para o fim desejado. Porém, alguns parâmetros devem ser analisados, como o grau de toxicidade da matriz polimérica, a estabilidade coloidal, biocompatibilidade e biodisponibilidade (AUMELAS *et al.*, 2007).

As nanopartículas empregadas para o encapsulamento de fármacos podem ser obtidas por diferentes métodos sendo eles complexação eletrolítica, formação de base de Schiff (CHEN *et al.*, 2011; RAO *et al.*, 2012), reticulação iônica (FAN *et al.*, 2012), nanoprecipitação (MAO *et al.*, 2001), autoformação ou autoagregação (HORNING e HEINZE, 2007) e copolimerização por enxertia (BAJPAI *et al.*, 1990), sendo que para a preparação das nanopartículas em estudo, escolheu-se o primeiro método descrito.

A complexação eletrolítica é bastante utilizada por apresentar principalmente a vantagem de não se usar moléculas catalisadoras ou inibidoras na preparação dos complexos, comparadas ao método de reticulação covalente, visto que a formação é baseada na interação iônica de um polímero catiônico e um aniônico (Figura 3). A mistura de polieletrólitos de cargas opostas em solução irá resultar em uma montagem ou auto-associação espontânea das ligações eletrostáticas. Estas interações diretas entre as cadeias poliméricas levam a formação de redes complexas de polieletrólitos (BERGER *et al.*, 2004). Portanto, a

principal interação que leva à formação do complexo é a atração eletrostática entre os grupos catiônicos de um polycation, como a quitosana, e os grupos aniônicos de um poliânion (Figura 3).

Figura 3 - Representação esquemática da formação de um complexo polieletrólítico.



Fonte: adaptada de Hoffman, A. S., 2002.

Essa interação eletrostática entre as cadeias do polycation e do poliânion possui dois componentes que influenciam na formação do complexo. O componente entálpico (ΔH) que favorece a interação eletrostática entre os grupos NH_3^+ da quitosana e os grupos negativos do poliânion como COO^- . Esse mecanismo é comumente encontrado na literatura (TAVARES *et al.*, 2012). O outro componente é o entrópico onde cada grupo NH_3^+ da quitosana possui uma atmosfera iônica ao seu redor que é rica em contra-íons negativos do ácido utilizado para protonar a quitosana. Esses contra-íons possuem mobilidade restrita que no momento da interação entre os grupos positivos e negativos dos políons, são liberados para a solução ocasionando um aumento na entropia do sistema (GUCHT *et al.*, 2011)

A formação e a estabilidade dos complexos polieletrólíticos dependem de muitos fatores tais como o grau de ionização de cada um dos polieletrólitos, a distribuição das cargas ao longo das cadeias poliméricas, a concentração dos políons, a sua proporção e ordem de mistura, o tempo de interação, a natureza dos grupos iônicos, a força iônica, o pH do meio reacional, dentre outros. (BHATTARAI *et al.*, 2005).

Uma variedade de complexos polieletrólíticos pode ser obtida interagindo a quitosana com polissacarídeos aniônicos tais como: goma do cajueiro carboximetilada (PAULA *et al.*, 2009), sulfato de dextrana (ANITHA *et al.*, 2011),

alginato (WANG *et al.*, 2011), carboximetilcelulose (ZHAO *et al.*, 2009), pectina (HU *et al.*, 2011), goma arábica (AVADI *et al.*, 2011) dentre outros.

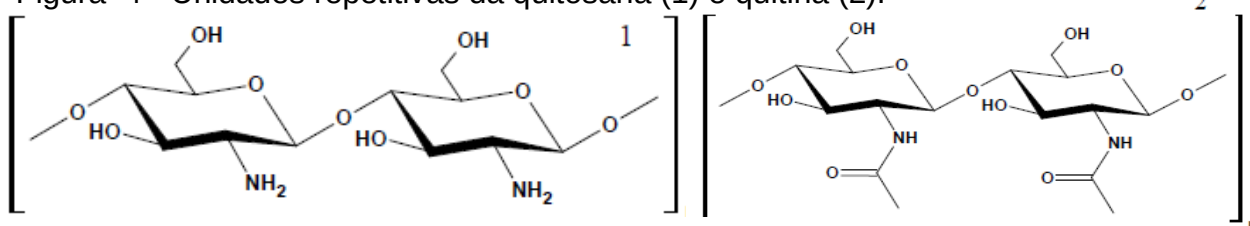
Nanopartículas obtidas via complexação polielétrica (CEP) tem apresentado grande potencial para aplicação em sistemas de liberação de fármacos. Resultados promissores foram obtidos em testes com cobaias para administração de insulina usando nanopartículas com caráter hidrofílico à base de quitosana (SARMENTO *et al.*, 2007).

1.1 Quitosana

A quitosana é um copolímero de N-acetil-2-amino-2-desoxi-d-glucopirranose e 2-amino-2-desoxi-d-glucopirranose, onde os dois tipos de unidades de repetição estão ligadas por (1 → 4) -β- ligações glicosídicas como observado na figura 1 (GAF, 1992). A quitosana é obtida pela desacetilação alcalina da quitina (MUZZARELI, 1973), um polissacarídeo amplamente encontrado na natureza. Ela é encontrada no exoesqueleto de crustáceos, tais como camarões e caranguejos (DASH *et al.*, 2011). Devido à baixa solubilidade em solução aquosa e em solventes orgânicos, a quitina é pouco utilizada enquanto que a quitosana é muito utilizada em bioaplicações por apresentar excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. (JAYAKUMAR *et al.*, 2007),

A quitina e quitosana apresentam estruturas químicas bastante semelhantes, sendo que o fator que faz a distinção entre as duas é o número de unidades acetiladas (Figura 4). O polissacarídeo será denominado de quitina, quando sua estrutura for totalmente ou 80% acetilada. Para cadeias com porcentagem de acetilação menor que 80% a amostra é denominada de quitosana (ABRAN E HIGUEIRA, 2004).

Figura 4 - Unidades repetitivas da quitosana (1) e quitina (2).

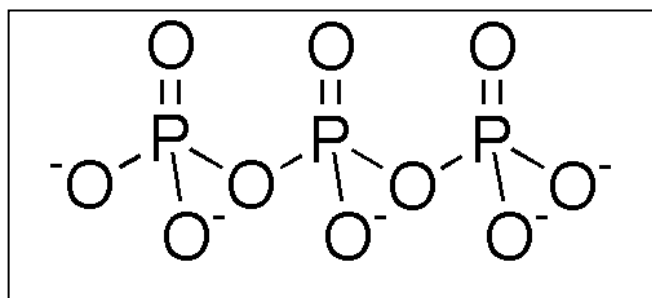


Fonte: Elaborada pela autora.

A molécula de quitosana apresenta-se em solução sob a forma de polieletrólito catiônico e isso possibilita a interação com moléculas carregadas negativamente (aniônicas). Por apresentar características benéficas como baixa imunogenicidade, biodegradabilidade, não-toxicidade e elevada densidade de carga positiva, que a quitosana vem sendo muito utilizada principalmente na área farmacêutica (SHAH *et al.*, 2009).

Um dos métodos bastante utilizados para a obtenção de nanopartículas de quitosana é por meio da gelificação iônica. Nesse método as cargas positivas da quitosana interagem com poliânions diversos, sendo o TPP o mais estudado por formar nanopartículas em condições simples e favoráveis. Ele possui a capacidade de gelificação rápida e não apresenta toxicidade. O TPP como mostrado na Figura 5, possui ânions multivalentes podendo formar um gel por interação iônica entre as cargas positivas dos grupos aminos da quitosana e os de cargas negativas do TPP.

Figura 5 – Representação estrutural do tripolifosfato.



Fonte: Elaborada pela autora.

Nanopartículas de QT/TPP tem mostrado excelentes resultados como portadoras de drogas e nutrientes em aplicações terapêuticas e nutricionais como proporcionando o aumento da biodisponibilidade de nutracêuticos (ZHANG *et al.*, 2008). Fan *et al.*, (2012) sintetizaram nanopartículas reticuladas com TPP por gelificação iônica e obtiveram um tamanho de partícula de 138 nm, potencial zeta de 35 mV e uma boa estabilidade de armazenamento em temperatura ambiente por 20 dias.

Muitos são os métodos utilizados para o preparo de nanopartículas por gelificação iônica. Alonso *et al.*, (1997) relataram a utilização de um método utilizando o tripolifosfato de sódio (TPP). Esse agente reticulante foi adicionado a uma solução aquosa de quitosana em ácido acético. As nanopartículas foram

formadas através das interações dos grupos amino da quitosana com os grupos fosfato negativamente carregados do tripolifosfato de sódio. Os autores encapsularam o soro bovino albumina (BSA) nas nanopartículas com uma eficiência de encapsulamento máxima de 51%. Esse método de gelificação iônica apresenta diversas vantagens como a utilização e soluções aquosas, a preparação de partículas com tamanho pequeno, o controle do tamanho da partícula pela variação dos valores de pH e a capacidade de encapsular proteínas ou DNA durante a formação das partículas. A principal desvantagem desse método são as interações relativamente fracas entre a quitosana e o TPP em alta ou baixa condição de pH, sendo questionado a estabilidade dessas nanopartículas em ambientes com pH baixo, como por exemplo, o do estomago.

1.2 Goma do cajueiro

A goma do cajueiro é um polissacarídeo de exsudato extraído a partir de árvores da espécie *Anacardium occidentale* (Figura 6) mais abundante no Norte e Nordeste do Brasil (BARROS, 1995).

Vem aumentando o interesse tecnológico na goma do cajueiro e outras gomas naturais, por apresentarem características reológicas semelhantes e aplicações industriais para muitos polímeros sintéticos e essas semelhanças provem principalmente de sua biodegradabilidade (CUNHA, P.L.R.; PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A., 2009)

Figura 6 - Árvore da *Anacardium occidentale* e o exsudato da árvore.



Fonte: <http://www.vivaterra.or.br>.

A composição química desse polissacarídeo pode variar dependendo dos fatores naturais como tipo de solo, época do ano, origem da planta, solo entre outros fatores (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição da goma de cajueiro em diferentes regiões geográficas.

Monossacarídeo	Composição (%) da goma de cajueiro de diferentes países			
	Brasil ¹	Índia ²	Papua ²	Venezuela ³
Galactose	72	61	63	49
Arabinose	4,6	14	16	31
Manose	-	2	1	4
Xilose	-	2	-	1
Ramnose	3,2	7	7	7
Glucose	14,0	8	9	-
Ácido Urônico	4,5	6,2	5,7	8

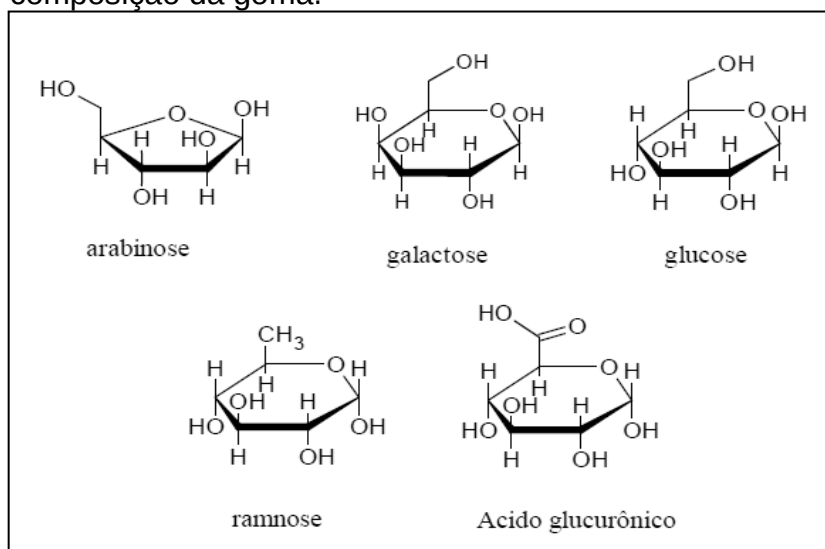
Fonte: Paula, Heatley e Budd, 1998; Anderson e Hendrie, 1970; Pinto et al., 1995 (Com adaptações).

O cajueiro é uma árvore muito importante em países como Brasil, Índia, Moçambique, Tanzânia e Quênia. É uma planta muito cultivada em todo o Brasil existindo em média mais de 710 mil ha de área plantada com essa espécie (GLYPHIS, J. P. e PUTTICK, G. M., 1998) e a produção média de goma / árvore / ano é de 700 g, com um potencial de produção anual de goma do cajueiro superior a 38.000 toneladas (WHISTLER, R.L., 1993)

Dados da literatura mostram que na análise da composição (Figura 7) da goma de cajueiro do Nordeste do Brasil foi encontrado β -D-galactose (72%), α -D-glucose (14%), arabinose (4,6%), ramnose (3,2%) e ácido glucurônico (4,7%) (DE PAULA E RODRIGUES, 1995; DE PAULA, HEATLEY E BUDD, 1998)

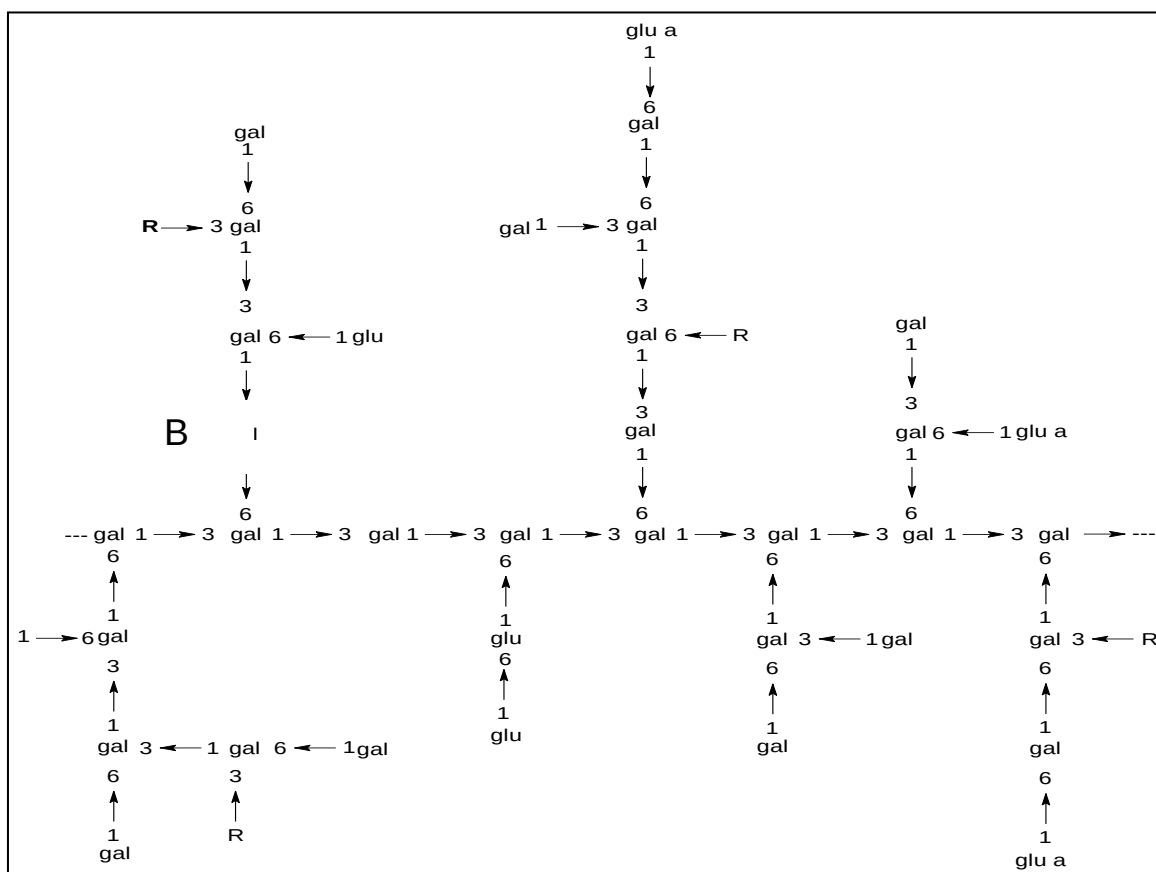
A caracterização estrutural da goma do Nordeste do Brasil indica que esta é basicamente constituída de uma cadeia principal de galactose (1 $\rightarrow$ 3), com ramificação de galactose (1 $\rightarrow$ 6), tendo unidades de ramnose, ácido glucurônico e arabinose como grupos terminais (Figura 8).

Figura 7 – Estruturas das unidades monossacarídicas da composição da goma.



Fonte: Cunha et al., (2007, com adaptações).

Figura 8 - Representação do polissacarídeo extraído do exsudato do cajueiro. (R = ramnose, arabinose). Fonte: Cunha, de Paula e Feitosa, 2009.



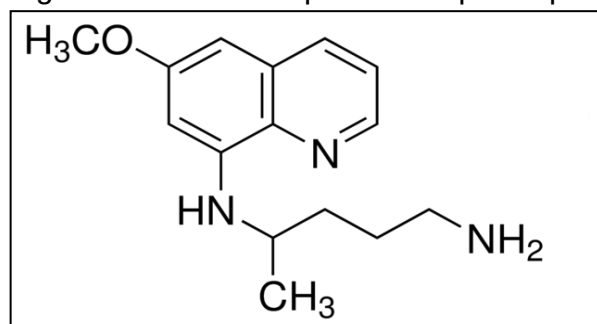
Fonte: Cunha et al., (2007, com adaptações).

Muitas aplicações da goma do cajueiro têm sido propostas, como formação de complexo polieletrólítico com a quitosana para sistema de liberação de fármaco (MACIEL et al., 2005), como espessantes para sucos e refrescos (MONTHÉ, 2000), na obtenção de hidrogéis com caráter superabsorvente para condicionador do solo (Guilherme et al., 2005), no preparo de emulsão como agente antiinflamatório no processo cicatricial de camundongos obtendo resultados favoráveis (SHIRATO et al., 2006).

1.3 Primaquina

A primaquina é um fármaco utilizado no tratamento da malária e de outras doenças parasitárias. Ela é da classe das 8-aminoquinolinas. Possui nomenclatura química de (4RS)-N⁴-(6-metoxi-8-quinolinil)-1,4-diaminopentano difosfato. É um fármaco que apresenta atividade contra as formas intrahepáticas, atuando na cura radical das infecções causadas por *P. vivax* e *P. ovale*. Ela é utilizada por via oral na forma de difosfato de primaquina (Figura 9) (SWEETMAN, 2009).

Figura 9 - Estrutura química da primaquina.



Fonte: Elaborada pela autora.

A primaquina apresenta-se sob a forma de um líquido viscoso moderadamente solúvel em água. O difosfato de primaquina é um pó cristalino alaranjado e solúvel em água (AL-BADR, 2005).

Ela possui eficácia comprovada nos casos de malária provenientes de infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, nos quais é utilizada na destruição das formas hepáticas e as tissulares latentes dessas espécies (TRACY e WEBSTER, 2003).

A malária é uma doença infecciosa causada por um protozoário unicelular do gênero *Plasmodium* que pode ser transmitida para o ser humano através da picada do mosquito do gênero *Anopheles* ou por contato com sangue contaminado através de transfusão sanguínea ou compartilhamento de agulhas e seringas infectadas com o parasita. Ela ocorre com maior frequência nos países tropicais possuindo quatro espécies parasitárias que infectam o homem: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* (FOLEY, TILLEY, 1998; KRETTLI et al., 2001). Cada espécie de parasita gera um padrão de doença característico, porém, o responsável pelas mais altas parasitemias e pela maior parte da mortalidade é o *P. falciparum*. (PIMENTEL et al., 2007). No Brasil, 85% dos casos registrados são ocasionados pelo parasita da espécie *Plasmodium vivax* (ANDRADE, 2005).

A utilização clínica de primaquina, no entanto, apresenta problemas devido à sua toxicidade. Com o intuito de melhorar a eficácia terapêutica do fármaco e diminuir sua toxicidade, várias abordagens têm sido examinadas, uma delas é o encapsulamento do fármaco em nanopartículas. Entre as vantagens que esse encapsulamento pode oferecer destacam-se: a proteção do fármaco no sistema terapêutico contra possíveis instabilidades no organismo; o aumento da eficácia terapêutica; a liberação progressiva e controlada do fármaco pelo condicionamento a estímulos do meio em que se encontram (sensíveis a variação de pH ou de temperatura); a diminuição expressiva da toxicidade; a diminuição da instabilidade e decomposição de fármacos sensíveis; a possibilidade de direcionamento a alvos específicos (sítio-especificidade); a possibilidade de incorporação tanto de substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas nos dispositivos; a diminuição da dose terapêutica e do número de administrações e aumento da aceitação da terapia pelo paciente. (PIMENTEL et al., 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Sintetizar e caracterizar nanopartículas de quitosana e goma do cajueiro via complexação eletrolítica para o encapsulamento de primaquina.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de quitosana e goma do cajueiro via complexação eletrolítica;
- Verificar o efeito de fatores como razão de cargas (n^+/n^-), concentração dos polieletrólitos e ordem de adição das soluções eletrolíticas, no tamanho das partículas;
- Caracterizar as nanopartículas utilizando espectroscopia de infravermelho, análise térmica, tamanho de partícula e potencial zeta;
- Realizar a incorporação de primaquina nas nanopartículas de goma de cajueiro e quitosana;
- Realizar o estudo cinético *in vitro* da liberação de primaquina.

3 EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

A quitosana (QT) com massa molar $4,6 \times 10^5$ g/mol com grau de desacetilação de 82% foi cedida pela Polymar Ind. Comp. Imp. Ltda Ciência e Nutrição S/A (Fortaleza, Ce – Brasil). A goma do cajueiro (GC) foi obtida através da purificação do exsudato da árvore da *Anacardium occidentale*. A purificação da goma foi realizada segundo método previamente descrito (RODRIGUES; DE PAULA; COSTA, 1993; SILVA *et al.*, 2003; DE PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997). A primaquina (Pr) (SIGMA-ALDRICH) e o TPP - tripolifosfato de sódio (SIGMA CHEMICAL COMPANY) foram utilizados sem tratamento prévio.

3.2 Preparo das soluções

A quitosana (QT) foi inicialmente dispersa em ácido clorídrico 0,101 mol/L. A goma do cajueiro (GC) foi dispersa em água deionizada. O pH das soluções de QT e GC foi ajustado para 4,0 com solução de hidróxido de sódio 0,095 mol/L e HCl 0,101 mol/L respectivamente, sendo a quantidade adicionada considerada para o cálculo da força iônica final (0,05 mol/L). As soluções de QT e GC foram preparadas nas concentrações de 0,05 e 0,1% e em seguida filtradas em membrana millipore 0,45 μm .

O Tripolifosfato (TPP) foi disperso em água deionizada na concentração de 0,1%. A solução foi filtrada em membrana millipore 0,45 μm .

3.3 Síntese de nanopartículas via complexação eletrolítica

Para a formação dos complexos polieletrólíticos (CPEs), usou-se volumes pré-determinados das soluções de quitosana (QT) e goma do cajueiro (GC). A síntese aconteceu pela adição do poliânion ao polication ou do polication ao poliânion por gotejamento e sob agitação constante. Após a formação do complexo, as amostras foram filtradas em membrana millipore de 0,22 μm e deixadas em repouso por 24 horas. Para estudar a influência da concentração das soluções na

formação dos complexos, volumes pré-determinados de solução de QT foram gotejados sobre a solução de GC de modo a obterem-se diferentes razões de cargas positivas (n^+) e negativas (n^-). Esse sistema foi denominado de QTGC. Verificou-se também o efeito da ordem de adição das soluções de QT e GC. As soluções de QT gotejadas em soluções de GC denominam-se QTGC e soluções de GC gotejadas em soluções de QT, denominam-se GCQT.

Para a determinação da razão n^+/n^- , calcula-se a partir da concentração da solução polimérica utilizada (10^{-3} g/mL) o número de mols de n^+ e n^- presentes em 1mL da solução.

Para QT com massa molar 168,6 g/mol (unidade monossacarídica) e grau de desacetilação de 82%, calcula-se o número de mols de n^+ , dividindo a concentração da solução (10^{-3} g/mL) pela massa molar da unidade monossacarídica (168,6 g/mol) e multiplicando pelo grau de desacetilação (82%). O cálculo para a determinação das razões n^+/n^- pode ser observado a seguir:

$$10^{-3} \text{ g/ml} \rightarrow \text{mol} = \frac{10^{-3}}{168,6} = 5,93 \times \frac{10^{-6} \text{ mol}}{\text{ml}} \times 82\% \quad (1)$$

$$\text{mol} = 4,86 \times 10^{-6} \text{ mol } n^+ / \text{mL}$$

Para GC massa molar 162 g/mol (unidade monossacarídica) e porcentagem de ácido urônico de 5,37%:

$$10^{-3} \text{ g/ml} \rightarrow \text{mol} = \frac{10^{-3}}{162} = 6,173 \times \frac{10^{-6} \text{ mol}}{\text{ml}} \times 5,37\% \quad (2)$$

$$\text{mol} = 3,31 \times 10^{-7} \text{ mol } n^- / \text{mL}$$

As amostras foram feitas em triplicata e as razões de cargas (n^+/n^-) foram as seguintes: 20; 15; 10; 5,0; 1,0; 0,5 e 0,2.

3.4 Incorporação de primaquina

Para a incorporação do fármaco, duas rotas foram estudadas com o objetivo de se obter aquela que proporcionasse as melhores condições para caracterização, maior eficiência de encapsulamento, maior rendimento reacional,

melhor distribuição de tamanho das partículas e potencial zeta. Os dois métodos utilizados para incorporação do fármaco foram descritos como método direto e indireto.

No primeiro método a adição da primaquina ocorreu durante a formação dos CPEs e para o segundo método, a primaquina foi adicionada nos CPEs previamente formados. Os dois métodos estão descritos detalhadamente nos dois itens a seguir.

3.4.1 Primaquina adicionada durante a formação dos CPEs (método indireto).

A incorporação da primaquina foi realizada para os CPEs de QTGC nas razões de carga $n+/n-$ 0,5, 1,0, e 10, na proporção matriz:fármaco 10:1 em massa. Foram preparadas as soluções poliméricas conforme descrito anteriormente. A primaquina foi dispersa na solução de QT permanecendo sob agitação por 30 minutos. Em seguida a solução de QT com primaquina foi gotejada lentamente na solução de GC sob agitação magnética constante. No preparo das amostras incorporadas os mesmos parâmetros de preparação dos CPEs foram mantidos. As amostras ficaram em repouso por 24 horas. Em seguida adicionou-se a solução de TPP 0,1% na proporção de QT: TPP – 2,5:1 e 4:1. A solução foi adicionada sob agitação magnética moderada à uma vazão de 2 mL/min. A amostra ficou sob agitação por 60 minutos e em seguida foi centrifugada a 16000 rpm por 30 minutos à temperatura ambiente.

3.4.2 Primaquina livre adicionada aos CPEs (método direto)

Os CPEs de razão 0,5; 1,0 e 10 foram preparados conforme procedimento descrito anteriormente. A primaquina foi adicionada 24 horas após a formação dos CPEs. A adição aconteceu sob agitação magnética constante. As soluções de CPEs+Pr (livre) ficaram sob agitação por 2 horas. Em seguida adicionou-se a solução de TPP 0,1% na proporção em massa de QT: TPP -2,0:1, 2,5:1, 3,5:1 e 4:1. A solução de TPP foi adicionada sob agitação magnética moderada. As amostras ficaram sob agitação por 60 minutos e em seguida foram centrifugadas a 16000 rpm por 30 minutos à temperatura ambiente.

3.5 Caracterização dos produtos formados

3.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos no espectrofotômetro modelo 8300 da Shimadzu entre 400 e 4000 cm^{-1} . As amostras foram analisadas por absorbância em pastilhas de KBr em um aparelho da Perkin Elmer, na faixa de 400 à 4000 cm^{-1} .

3.5.2 Análises do tamanho e da distribuição de partículas e potencial zeta

As amostras foram analisadas em um Zeta Sizer modelo Malvern 3600 com feixe de luz vermelha e comprimento de onda de 633 nm. As amostras foram preparadas, deixadas em repouso por 24 horas e em seguida analisadas.

3.5.3 Análise térmica

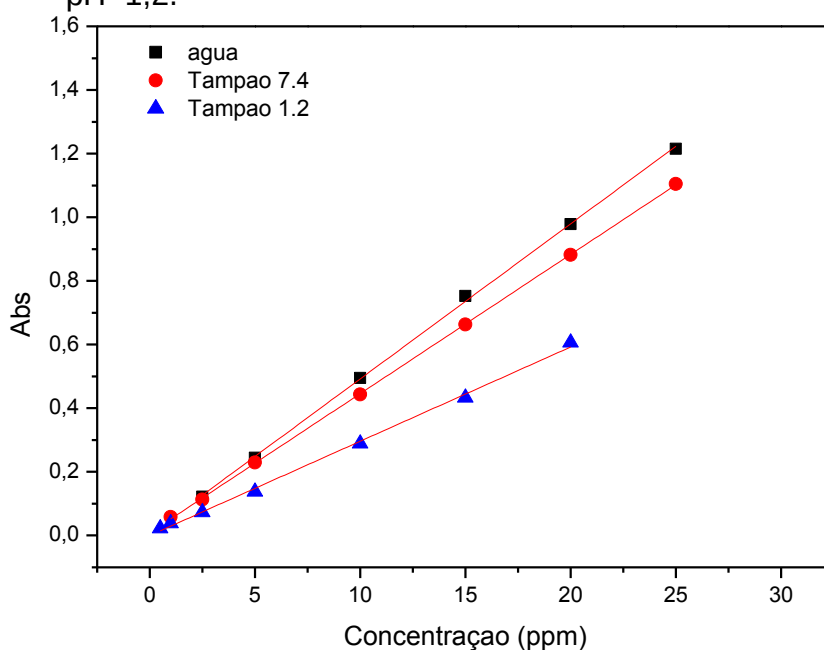
Para o estudo da estabilidade térmica dos CPEs de razão n+/n- 1,0, 5,0 e 10 foi avaliado por análise termogravimétrica (TGA) em equipamento Shimadzu modelo TGA 50, com razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ entre 25 e 500 $^{\circ}\text{C}$, e por Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) em um equipamento Shimadzu modelo DSC 50, com aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ entre 25 e 300 $^{\circ}\text{C}$. Usou-se 5 mg de amostra e cadinhos de platina para cada análise realizada.

3.5.4 Teor de primaquina encapsulada (T.E.) e eficiência de encapsulamento (E.E.)

O fármaco incorporado aos CPEs 0,5, 1,0, 5,0 e 10 foi determinado por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, utilizando um aparelho Micronal modelo B582. A concentração de primaquina foi analisada antes e após a

centrifugação. Após a centrifugação, analisou-se o sobrenadante para a determinação da primaquina não incorporada. A concentração foi medida através de uma curva de calibração da primaquina no comprimento de onda de 254nm. As análises foram realizadas em duplicatas. As curvas de calibração da primaquina em água, em tampão fosfato pH=7,4 e tampão fosfato pH=1,2 estão representadas na Figura 10:

Figura 10 - Curvas de calibração da primaquina em água, em tampão fosfato pH = 7,4 e tampão fosfato pH=1,2.



Fonte: Elaborada pela autora.

As equações e os coeficientes de correlação equivalentes a cada curva de calibração estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 – Equações referentes às curvas de calibração da primaquina em água, pH=1,2 e pH=7,4.

	Equação	Coeficiente de correlação (r^2)
Água	$Abs = 0,00974 + 0,0482 \times C$	0,999
pH=1,2	$Abs = -0,00144 + 0,02971 \times C$	0,997
pH=7,4	$Abs = -0,00691 + 0,04459 \times C$	0,999

Fonte: Elaborada pela autora.

O teor de primaquina encapsulada (T.E) foi determinado a partir de uma massa conhecida de amostra em um volume conhecido de água deionizada. A amostra ficou sob agitação constante por 24 horas e em seguida foi medida a absorbância. A equação para a determinação do T.E pode ser observada na equação a seguir.

$$T.E = \frac{C_{obtida} \times vol_{utilizado} \times 100\%}{1000_{mL} \times m_{utilizada}} \quad (3)$$

Onde, C_{obtida} é a concentração de primaquina obtida através da curva de calibração, $vol_{utilizado}$ é o volume utilizado para dissolver a amostra e $m_{utilizada}$ é a massa utilizada.

A eficiência de encapsulamento (E.E) foi obtida por meio da relação entre a concentração inicial e a concentração de primaquina no sobrenadante. O cálculo para a eficiência de encapsulamento pode ser observado na equação a seguir.

$$E.E = \frac{C_{inicial} - C_{sobrenadante}}{C_{inicial}} \times 100 \quad (4)$$

Onde, $C_{inicial}$ é a concentração de primaquina analisada antes da centrifugação, $C_{sobrenadante}$ é a concentração do sobrenadante medida após a centrifugação.

3.5.5 Ensaio de liberação *in vitro*

O ensaio de liberação foi realizado em dois meios distintos: tampão fosfato 1,2 e 7,4. Para cada tampão estudado, utilizou-se 80 mg da nanopartícula encapsulada com primaquina. As amostras foram dispersas em 5 mL de cada tampão, colocadas em membranas de diálise e mergulhadas em 80 mL do mesmo meio a uma temperatura de 37°C. Alíquotas foram retiradas e analisadas no UV-Vis com $\lambda=254$ nm.

Os parâmetros cinéticos foram calculados com a finalidade de caracterizar o tipo de liberação. Utilizou-se os modelos de zero ordem (Eq. 5), primeira ordem (Eq. 6), segunda ordem (Eq. 7), Higuchi (Eq. 8) e Korsmeyer-Peppas (Eq.9) (Dash et al, 2010).

$$C = k_0 t \quad (5)$$

Onde, C é a concentração de primaquina liberada, t o tempo, e k_0 a constante de ordem zero.

$$\ln([C]/[C]_0) = -kt \quad (6)$$

Onde, C_0 é a concentração de primaquina inicial e k a constante de primeira ordem.

$$1/[C] = kt + (1/[C]_0) \quad (7)$$

Onde, k é a constante de segunda ordem.

$$Q = Kt^{1/2} \quad (8)$$

Onde Q é a concentração de primaquina liberada e K a constante de Higuchi.

$$M_t / M_\infty = Kt^n \quad (9)$$

Onde M_t/M_∞ é a fração de primaquina liberada em um tempo t, K é uma constante e n o expoente de liberação.

Com o objetivo de verificar o coeficiente de correlação linear plotou-se os gráficos: “C vs. t”, para o modelo de ordem zero; “ln C vs. t”, para o modelo de primeira ordem; “1/C vs. t”, para o modelo de segunda ordem; “C vs. $t^{1/2}$ ”, para o modelo de Higuchi; e “ln M_t/M_∞ vs. ln t”, para o modelo de Korsmeyer-Peppas (Shoaib *et al.*, 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

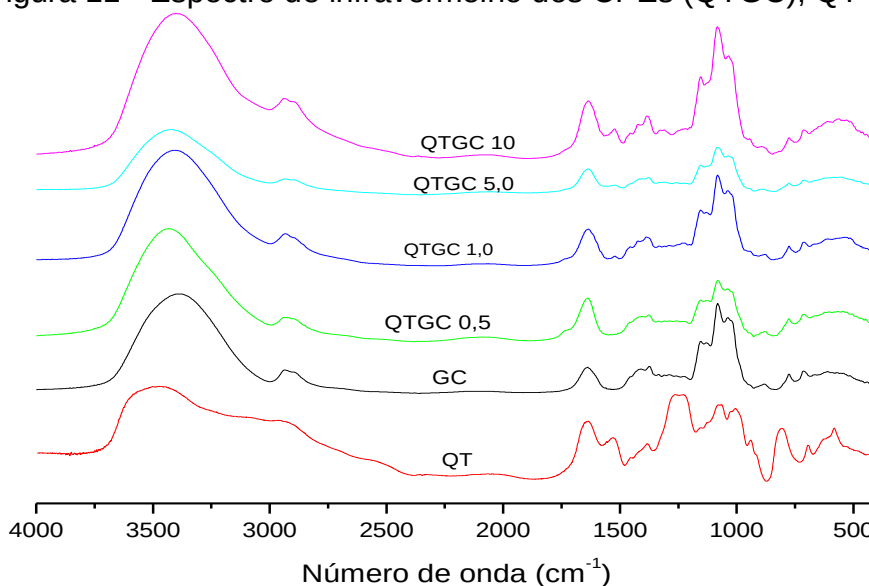
4.1 Síntese de nanopartículas de QTGC via complexação eletrolítica

4.1.1 Análise de infravermelho

A Figura 11 mostra as principais bandas de absorção da quitosana e goma do cajueiro e dos CPEs (QTGC 0,5, 1,0, 5,0 e 10) formados.

O espectro da goma apresenta banda larga em 3379 e 2933 cm^{-1} atribuídas às vibrações de estiramento O-H e C-H, respectivamente (LAWRIE *et al.*, 2007). A absorção em 1649 cm^{-1} é devida a vibração de O-H de moléculas de água. As bandas em 1150, 1080 e 1030 cm^{-1} são referentes ao estiramento de C-O-C e deformação dos grupos O-H das unidades glicosídicas (BUENO, 1990). As bandas características das ligações envolvendo os grupos nitrogenados da quitosana estão representadas em 1559 cm^{-1} para a ligação NH_2 das aminas e NH das amidas, e em 1375 cm^{-1} para a ligação C-N (PAULA *et al.*, 2011). A absorção em 1647 cm^{-1} pode ser relacionada tanto para o estiramento da ligação C=O de amidas (LI *et al.*, 2008), como para a vibração da O-H da molécula de água (ZOHURIAAN; SHOKROLAHI, 2004) (Figura 11). Após a complexação, a maioria das bandas características de quitosana e goma do cajueiro sofrem sobreposição.

Figura 11 - Espectro de infravermelho dos CPEs (QTGC), QT e GC.



Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 3 – Atribuições de algumas bandas de absorção da QT, GC e dos CPEs.

GOMA DO CAJUEIRO		QUITOSANA	
Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
1150, 1080 e 1030	Estiramento C-O-C e deformação O-H das unidades glicosídicas.	1068	Vib. C-O de álcool primário
		1074	Vib. C-N de amina alifática
		1654	Vibr. C=O do grupo acetoamida
1649	Vib. O-H das moléculas de água	1380	Vibr. C-H do grupo CH ₃ referente ao grupo acetoamida
2933	Vib. estiramento C-H	1400	Grupos alquis e carboxilatos (C-O-C)
3379	Vib. estiramento O-H	1753	C=O de grupos esteres

Fonte: Elaborada pela autora.

4.1.2 Avaliação dos parâmetros que influenciam o tamanho das nanopartículas de QTGC.

4.1.2.1 Efeito da concentração de QT e GC

O estudo do efeito da concentração no tamanho da partícula se deu inicialmente pela adição de solução de quitosana (QT) em goma do cajueiro (GC) com concentrações iguais para ambos os polissacarídeos. As concentrações estudadas foram de 0,05 e 0,1%. Após a formação do complexo as amostras ficaram em repouso por 24 horas e logo após analisadas em relação ao diâmetro por volume, potencial zeta, para várias razões de cargas (Tabela 4).

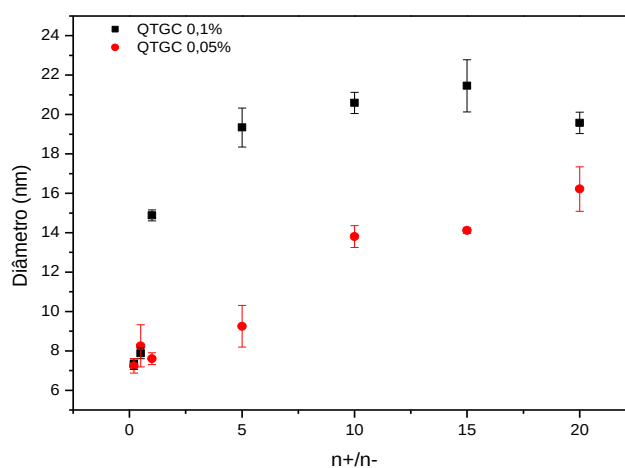
Tabela 4 - Efeito da concentração: QT 0,05% em GC 0,05% e QT 0,1% em GC 0,1%.

n+/n-	QT 0,05% em GC 0,05%		QT 0,1% em GC 0,1%	
	Diâmetro $\pm$ DP (nm)	%	Diâmetro (nm)	%
0,2	7,23 $\pm$ 0,36	100	7,32 $\pm$ 0,26	100
0,5	8,25 $\pm$ 1,06	99,8	7,88 $\pm$ 0,27	99,9
1,0	7,60 $\pm$ 0,30	96,4	14,88 $\pm$ 0,28	99,8
5,0	9,25 $\pm$ 1,05	99,73	19,34 $\pm$ 0,99	99,9
10	13,80 $\pm$ 0,56	99,23	20,59 $\pm$ 0,54	99,8
15	14,11 $\pm$ 0,14	99,55	21,45 $\pm$ 1,32	99,0
20	16,21 $\pm$ 1,12	98,15	19,57 $\pm$ 0,54	99,9

Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se que com o aumento da concentração dos polieletrólitos de 0,05 para 0,1%, há um aumento no tamanho das partículas (Figura 12). Este comportamento é semelhante aos dados reportados da literatura, onde o tamanho das partículas é diretamente proporcional à concentração dos políons [HAJDU, 2008]. SCHATZ *et al.*, [2004a] observaram que aumentando a concentração de sulfato de dextrana e quitosana na solução há um aumento no tamanho das partículas dos CPEs. Mahnmoud *et al.*, (2011) sintetizaram nanopartículas de quitosana e sulfobutileter-B-ciclodextrina e observaram que o aumento da concentração dos polieletrólitos aumentava o tamanho das partículas.

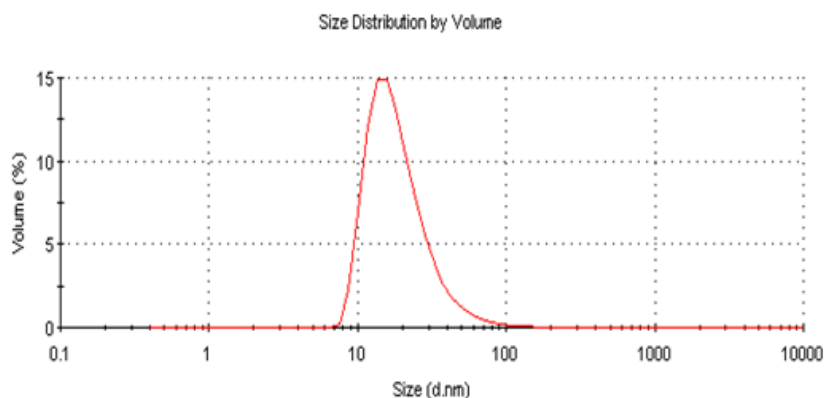
Figura 12 - Tamanho de partícula em função da concentração dos polieletrólitos.



Fonte: Elaborada pela autora.

A Figura 13 mostra o comportamento geral para a análise da distribuição por volume dos CPEs estudados.

Figura 13 - Perfil geral da distribuição por volume para os CPEs obtidos.

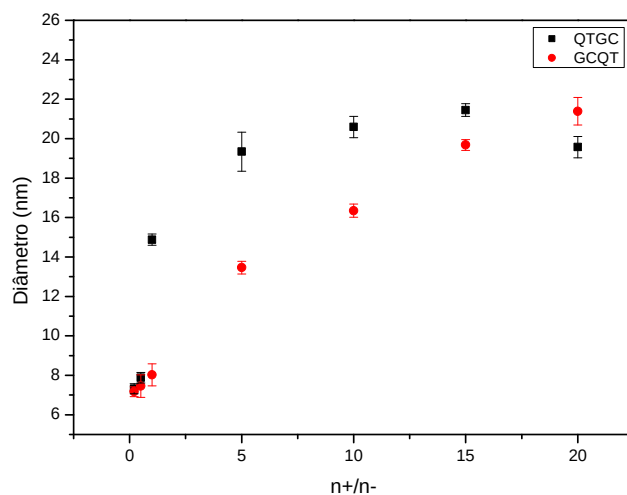


Fonte: Elaborada pela autora.

4.1.2.2 Efeito da ordem de adição

A Figura 14 mostra o efeito da ordem de adição dos polieletrólitos no tamanho das partículas. Partículas de GC gotejadas em QT (GCQT) apresentam na sua grande maioria, diâmetros menores do que as formadas de QT gotejada em GC (QTGC).

Figura 14 - Efeito da ordem de adição para CPEs na concentração de 0,1%.



Fonte: Elaborada pela autora.

A ordem de adição dos polieletrólitos afeta o tamanho e a complexação das partículas (RUSU-BALAITA *et al.*, 2003). Esse mesmo efeito foi observado por Jintapatanakit e col., na formação de complexos de trimetilquitosana, tripolifosfato (TPP) e insulina. Observaram que a adição do TPP à mistura de insulina e trimetilquitosana, o tamanho de partícula era maior do que adicionando trimetilquitosana à mistura de insulina com TPP.

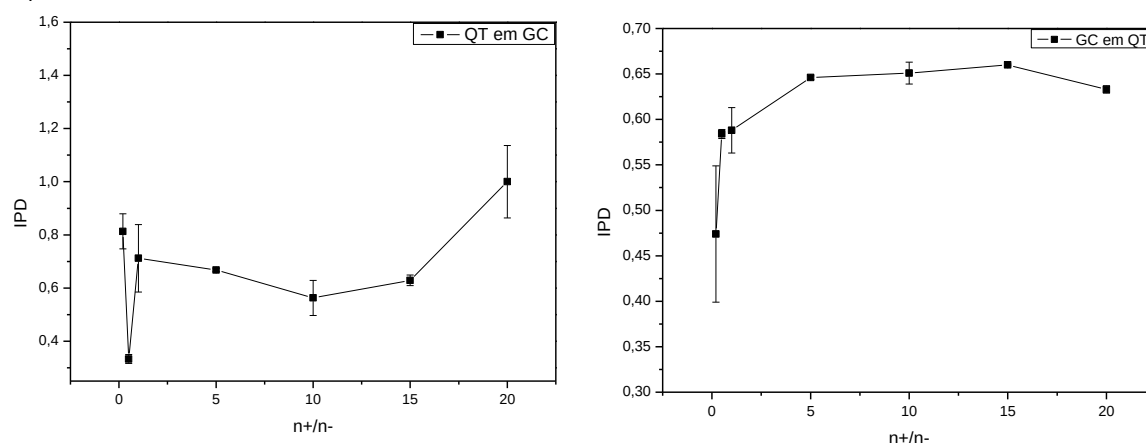
4.1.2.3 Estudo de polidispersividade (IPD)

O índice de polidispersão (IPD) determina a quantidade de partículas com mesmo tamanho que estão presentes em solução. A polidispersividade é importante no estudo do tamanho das nanopartículas onde valores de IPD menores que 0,4 representam partículas de baixa polidispersividade e acima de 0,4 as nanopartículas são consideradas polidispersas [SCHATZ *et al.*, 2005; SEATHER *et al.*, 2008].

Quanto maior o tamanho da partícula maior o índice de polidispersividade (IPD). Schatz *et al.*, (2004a) encontraram comportamento semelhante ao sintetizar nanopartículas de quitosana e sulfato de dextrana. Eles observaram que com o aumento do tamanho da partícula, havia um discreto aumento no índice de polidispersão das amostras.

A Figura 15 apresenta os valores de IPD para os CPEs de QTGC e GCQT. Observa-se uma relação direta em quase todas as amostras entre o IPD e a razão de cargas $n+/n-$.

Figura 15 – Valores de IPD para os CPEs de QTGC e GCQT na concentração de 0,1%.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.1.2.4 Estudo da estabilidade dos CPEs com o tempo

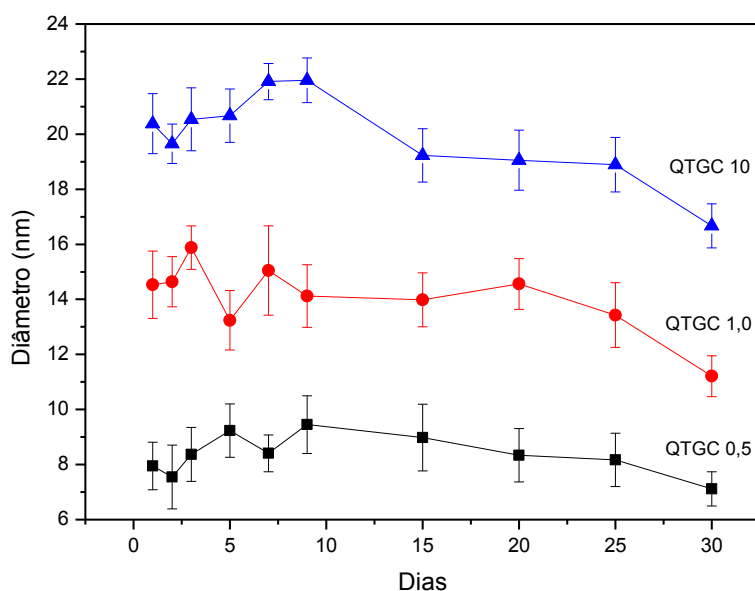
A Figura 16 apresenta o estudo de estabilidade com o tempo das nanopartículas QTGC de razões de cargas n^+/n^- de 0,5, 1,0 e 10. O estudo foi realizado com as nanopartículas em solução, durante 30 dias e em temperatura ambiente.

Pode-se observar que para todas as amostras ocorreu inicialmente um aumento de tamanho seguido de uma estabilização e por fim um decréscimo no tamanho. Isso pode ocorrer devido à agregação das partículas com o tempo e uma possível floculação do CPE. O início da floculação para os complexos estudados foi observado após 25 dias de estudo. Na amostra QTGC 10 com excesso de quitosana, observou-se a formação de agregados com 30 dias de estudo.

No estudo da estabilidade de nanopartículas de goma do cajueiro (GC) e ácido acrílico (AA), Silva *et al.*, (2008) observaram que o aumento da razão molar GC/AA favorecia o aumento da agregação.

Nanopartículas de quitosana (QT) e goma do angico (GA) sintetizadas por Oliveira *et al.*, (2008) foram monitoradas durante 26 dias e o CPE de razão n^+/n^- igual a 1 apresentou um discreto decréscimo no tamanho de partícula nos primeiros cinco dias e uma estabilização no tamanho até o termino do estudo.

Figura 16 - Estudo da estabilidade dos complexos de QTGC em diferentes razões de carga n^+/n^- .



Fonte: Elaborada pela autora.

4.1.3 Potencial Zeta

A Tabela 5 apresenta os valores de potencial zeta para os CPEs de QT em GC e GC em QT na concentração de 0,1%.

Tabela 5 – Potencial zeta para os CPE's de QTGC e GCQT nas concentrações de 0,1%.

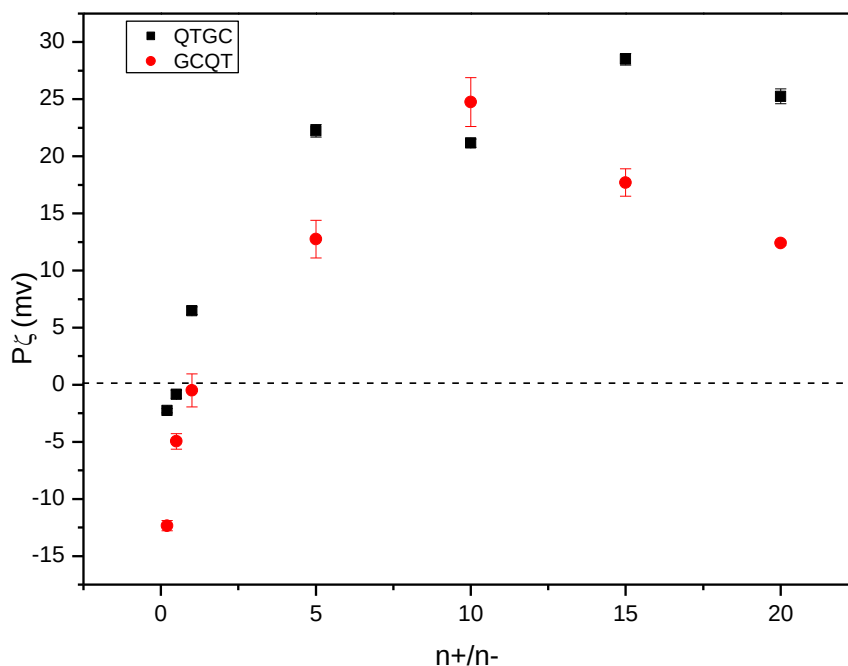
n+/n-	QT em GC		GC em QT	
	ζ mV $\pm$ DP	%	ζ mV $\pm$ DP	%
0,2	-2,27 $\pm$ 0,19	99,6	-12,35 $\pm$ 0,45	100
0,5	-0,85 $\pm$ 0,34	99,8	-4,96 $\pm$ 0,67	100
1,0	6,48 $\pm$ 0,33	98,6	-0,5 $\pm$ 1,45	99,5
5,0	22,23 $\pm$ 0,54	99,7	12,75 $\pm$ 1,6	99,9
10	21,15 $\pm$ 0,35	100	24,75 $\pm$ 2,1	99,2
15	28,5 $\pm$ 0,5	100	17,7 $\pm$ 1,2	100
20	25,25 $\pm$ 0,65	98,15	12,4 $\pm$ 0,2	99,9

Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se que o potencial zeta de GCQT para razões n+/n- < 1, quando há excesso de cargas negativas, apresenta valores negativos, isto indica que as nanopartículas estão recobertas com GC. As razões n+/n- > 1 apresentam potencial positivo, indicando que as nanopartículas estão recobertas positivamente devido ao aumento das cargas catiônicas. Razões de cargas próximas ou igual a 1 apresenta equidade de cargas entre os grupos COO- e NH₃⁺, ocasionando a formação de uma partícula mais neutra, diminuindo o potencial zeta e esse tendendo a zero (Figura 17).

Sarmiento *et al.*, [2007b] observaram que o potencial zeta era dependente da razão de cargas de quitosana/sulfato de dextrana, sendo mais positivo para razões de cargas maiores e mais negativos quando essa mesma razão diminuía e tendendo a zero para razão de carga igual a 1. Shu *et al.*, (2009) observaram que variando a razão molar das nanopartículas de QT, ácido aspático (APA) e polietilenoglicol (PEG) o potencial zeta diminuía à medida que se diminuía a razão QT/APA.

Figura 17 - Potencial zeta para os CPEs de QTGC e GCQT.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.1.4 Análise térmica

A Figura 18 mostra as curvas termogravimétricas para os CPEs QTGC 0,5, 1,0 e 10. Os dados referentes à perda de massa e as temperaturas para cada evento térmico podem ser observados na Tabela 6.

Observa-se para as amostras analisadas (Figuras 18A e B), que o primeiro evento é característico da perda de umidade pela amostra, com temperatura de decomposição máxima em cerca de 40°C. Nessa temperatura as amostras apresentam perdas de aproximadamente 10% de massa.

Os outros eventos observados são característicos da decomposição dos polissacarídeos. Dados reportados da literatura mostram que a quitosana se decompõe em dois eventos, um em torno de 270°C e outro acima de 400°C (Ali; Rajendran; Joshi, 2011), e a goma do cajueiro apresenta três eventos de decomposição entre 250 e 500 °C (Silva *et al.*, 2009). Para o primeiro estágio de decomposição a 287 °C para a amostra QTGC 0,5 e 288-296 °C para as amostras QTGC 10 e QTGC 1,0 respectivamente, a perda de massa aumenta com o aumento da razão n+/n-, indo de 29 %, a 33 % e a 34 % de perda de massa. As amostras QTGC 0,5 e QTGC 1,0 apresentaram no último evento térmico uma perda de massa

de 4 e 5 % respectivamente, restando uma massa residual de 55 % para a razão $n+/n-$ 0,5 e 47 % para a razão $n+/n-$ 1,0. A amostra QTGC 10 apresentou 5 eventos térmicos sendo que no último estágio de decomposição à 794 °C houve uma perda de 4 % em massa, restando uma massa residual de 36 %.

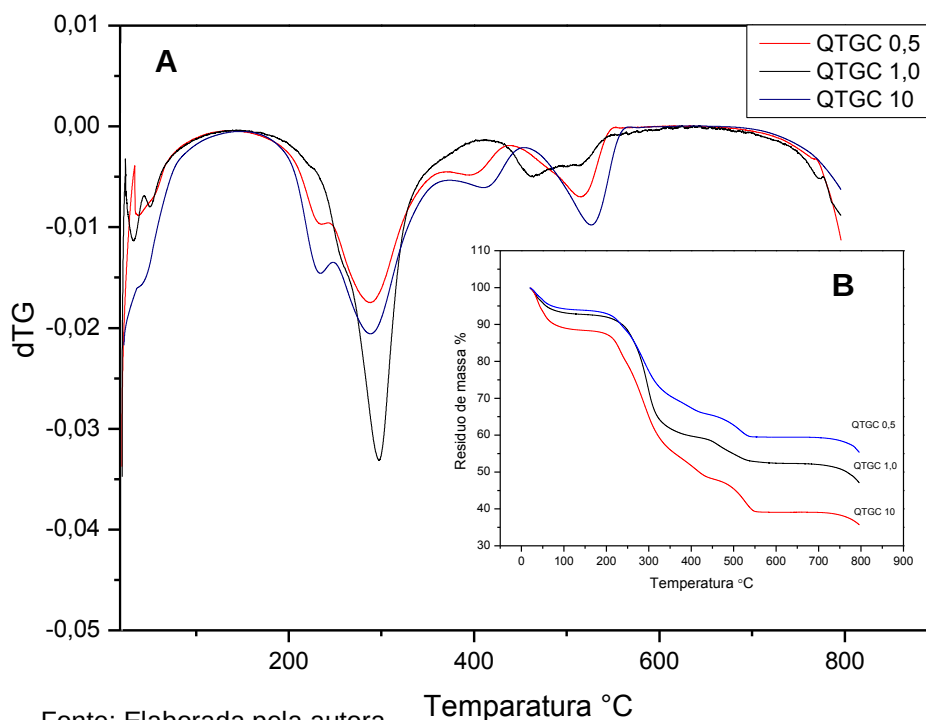
Observa-se que a amostra com maior razão de goma (QTGC 0,5) possui uma maior estabilidade térmica que as demais podendo concluir que o excesso de goma na matriz aumenta sua estabilidade térmica.

Tabela 6 – Eventos térmicos da análise termogravimétrica para os CPEs de razão $n+/n-$ 0,5, 1,0 e 10.

Amostra	Evento	Temperatura de pico °C	Perda de massa %
QTGC 0,5	1	36	6
	2	287	29
	3	513	6
	4	783	4
	Massa residual à 800°C = 55%		
QTGC 1,0	1	32	7
	2	296	33
	3	464	8
	4	792	5
	Massa residual à 800°C = 47%		
QTGC 10	1	39	12
	2	288	34
	3	417	7
	4	527	7
	5	794	4
	Massa residual à 800°C = 36%		

Fonte: Elaborada pela autora.

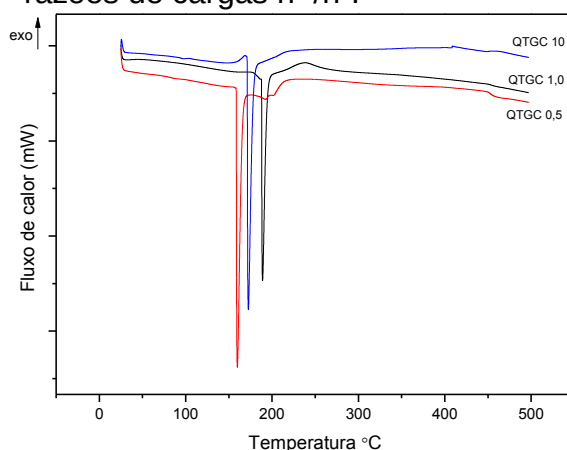
Figura 18 - Curvas de dTG para os CPEs QTGC com diferentes razões de cargas n+/n- (A) e curvas termogravimétricas para as respectivas amostras (B).



Fonte: Elaborada pela autora.

A análise por DSC para os CPEs estão ilustrados na Figura 19. As amostras apresentam picos de transição endotérmica com temperaturas na faixa de 160 a 173 °C relativos à perda de umidade pela amostra (Paula e col., 2010b). Os picos exotérmicos ocasionados pela decomposição dos polissacarídeos aparecem com menos intensidade sendo mais significativo para a amostra QTGC-1,0.

Figura 19 – DSC para os CPEs com diferentes razões de cargas n+/n-.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.2 Incorporação e liberação de primaquina.

4.2.1 Metodologia utilizada para incorporação da primaquina nos CPE's.

Duas rotas foram utilizadas para a incorporação de primaquina nos CPEs, o método direto e o indireto. No método indireto a primaquina é adicionada inicialmente à solução de QT que permanece sob agitação. Em meio ácido a primaquina, que possui grupos amino é protonada ficando com uma carga positiva. Com isso a primaquina e a QT não interagem entre si. Após a solubilização a mistura QT+Pr é adicionada à solução de GC que é um polieletrólito aniônico. Ao se adicionar a mistura QT+Pr à solução de GC haverá uma competição entre as cargas positivas da QT e da primaquina em interagir com as cargas negativas da GC. Logo, se a molécula de primaquina se difundir mais rapidamente no meio reacional, interagindo primeiramente com a GC, não haverá a formação do complexo polieletrólítico entre a QT e a GC que é a matriz de interesse para a incorporação do fármaco.

Baseando-se nessa evidência da não formação do CPE pelo método indireto, optou-se pelo método direto de incorporação do fármaco, onde a primaquina foi adicionada 24 horas após a formação do complexo polieletrólítico, sob as mesmas condições de formação dos CPE descritas anteriormente. Por fim, adicionou-se o TPP como agente reticulante a fim de formar micelas contendo o CPE e a primaquina.

4.2.2 Teor de primaquina encapsulada e Eficiência de Encapsulamento (E.E%).

4.2.2.1 Efeito da adição do TPP nos complexos polieletrólíticos com primaquina.

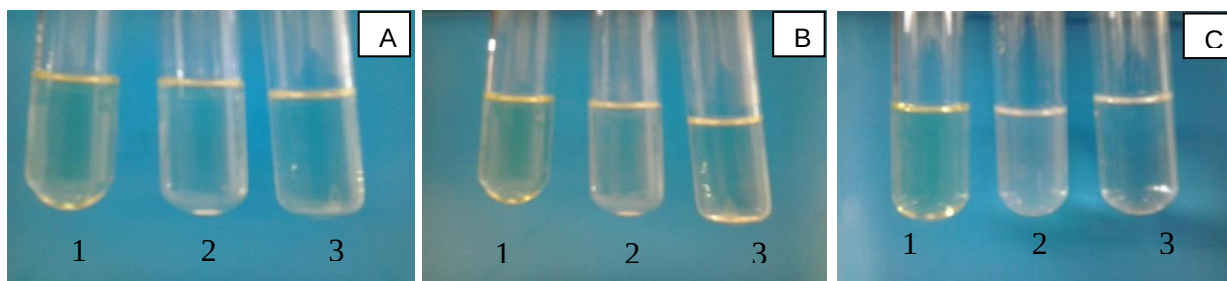
As amostras foram preparadas inicialmente pela formação do complexo polieletrólítico e após 24 horas a primaquina foi adicionada e permaneceu sob agitação por 2 horas. Porém todos os CPEs escolhidos apresentam potencial zeta positivos logo, a carga superficial dessas nanopartículas escolhidas são positivas. A primaquina é um fármaco catiônico em meio ácido. Com a adição da primaquina nos

CPEs não haverá atração eletrostática devido à igualdade de cargas. Por fim o TPP é adicionado favorecendo a gelificação iônica através da interação de suas cargas negativas com as cargas positivas dos CPEs.

No momento da adição observou-se que dependendo do CPE a adição do TPP levava a uma maior ou menor turvação da amostra. Na Figura 20 observa-se o resultado da adição do TPP nos CPEs. O tubo 1 representa a amostra inicial formada pelo CPE e a primaquina com coloração amarelada. O tubo 2 representa a amostra inicial com adição de TPP. Observa-se um aumento na turvação da figura A para a C. Isso ocorre devido a amostra C possuir mais cargas superficiais positivas que interagem mais facilmente com as cargas negativas do TPP formando uma solução turva. O tubo 3 representa a amostra após a centrifugação. Observa-se que na amostra A o sobrenadante permaneceu com a cor amarelada inicial e não houve a formação de precipitado (gel). A amostra B apresentou-se levemente amarelada e a amostra C totalmente incolor, mostrando que a adição do TPP foi mais favorecida para a amostra C com excesso de cargas positivas.

Resultado semelhante foi obtido por Koukaras *et al.*, 2012, onde sintetizaram nanopartículas de quitosana por gelificação ionotrópica e obtiveram para a razão QT:TPP 2:1 uma solução turva com agregados.

Figura 20 – Tubos de ensaio contendo alíquotas das amostras QTGC-Pr (1), com a adição do TPP (2) e após centrifugação (3).



Fonte: Elaborada pela autora.

4.2.2.2 Efeito da razão QT:TPP na eficiência de encapsulamento (E.E).

A Tabela 7 mostra a eficiência de encapsulamento (E.E%) das nanopartículas. O fármaco foi encapsulado em 3 matrizes diferentes. Utilizou-se CPE's com a mesma razão de cargas QT e GC ($n^+/n^- = 1,0$), e com excesso de QT ($n^+/n^- = 5$ e 10). A eficiência de encapsulamento foi determinada por meio da análise

da absorbância do sobrenadante das amostras centrifugadas após adição do TPP. O TPP com concentração de 0,1% foi adicionado com o objetivo de precipitar na forma de hidrogel, o CPE com fármaco incorporado. Os CPE's escolhidos apresentam tamanho de partícula na faixa de 14 – 21 nm aproximadamente. As razões QT:TPP estudadas foram de 2:1, 2,5:1 e 3,5:1. Os dados obtidos podem ser observados na Tabela 7.

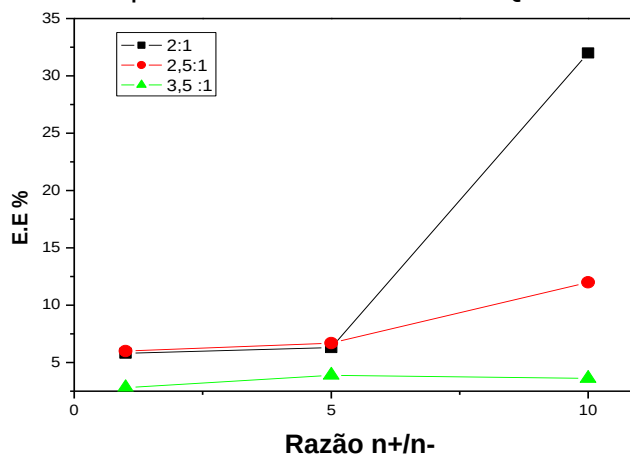
Tabela 7 – Relação entre a E.E % e a razão QT:TPP para os CPE's de razão 1, 5 e 10.

n+/n-	Razão QT:TPP	E.E %
1,0	2:1	5,8
	2,5:1	6,0
	3,5:1	2,8
5,0	2:1	6,3
	2,5:1	6,7
	3,5:1	3,9
10	2:1	32
	2,5:1	12
	3,5:1	3,6

Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se que para a razão $n+/n- = 10$ o aumento da razão QT:TPP favoreceu a diminuição da eficiência de encapsulamento. Isso pode ser explicado pelo fato dessa amostra apresentar um excesso de carga positiva na sua superfície e isso facilita a interação entre essas cargas positivas da quitosana e as cargas negativas do TPP. A Figura 21 mostra essa relação entre os CPEs incorporados com primaquina com a eficiência de encapsulamento para cada razão QT:TPP estudada.

Figura 21 – Relação entre E.E % e razão n+/n- do CPE para as diferentes razões QT:TPP.



Fonte: Elaborada pela autora.

Logo, usando TPP 0,1% a eficiência de encapsulamento máxima obtida foi para a amostra QTGC 10 com razão QT:TPP 2:1.

4.2.2.3 Efeito da razão QT:TPP no tamanho das partículas e no potencial zeta.

As nanopartículas incorporadas com primaquina foram reticuladas com TPP e centrifugadas e em seguida analisadas. O diâmetro das partículas presentes no sobrenadante pode ser observado na Tabela 8.

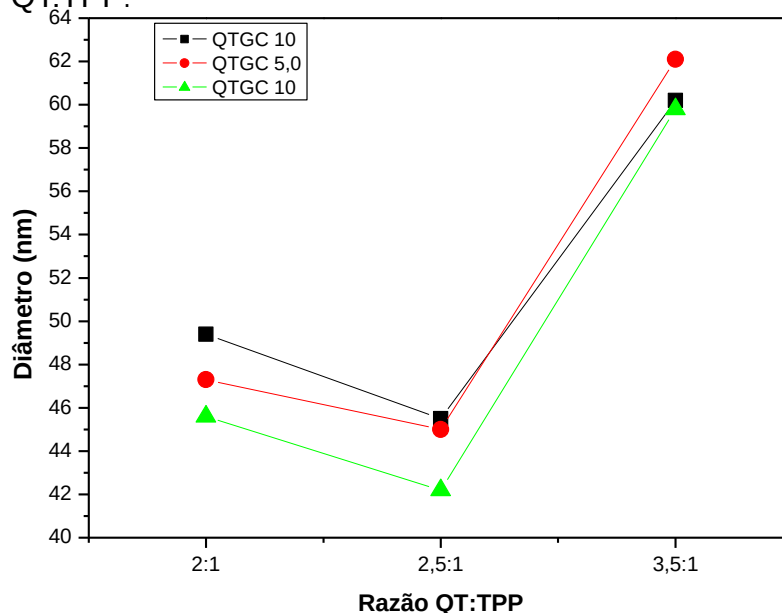
Tabela 8 – Valores de tamanho de partícula obtidos para as três amostras analisadas em diferentes razões QT:TPP.

Amostra	Razão QT:TPP	Diâmetro (nm)	%
QTGC-Pr 1,0	2:1	45,6	98,9
	2,5:1	42,2	99,0
	3,5:1	59,8	100
QTGC-Pr 5,0	2:1	47,3	100
	2,5:1	45,0	100
	3,5:1	62,1	97
QTGC-Pr 10	2:1	59,4	100
	2,5:1	45,5	100
	3,5:1	60,2	98,3

Fonte: Elaborada pela autora.

Observou-se que para as três razões QT:TPP estudadas, resultados semelhantes foram obtidos para os tamanhos de partícula (Figura 22).

Figura 22 – Tamanho de partícula obtido para as amostras QTGC 1,0, 5,0 E 10 nas diferentes razões QT:TPP.

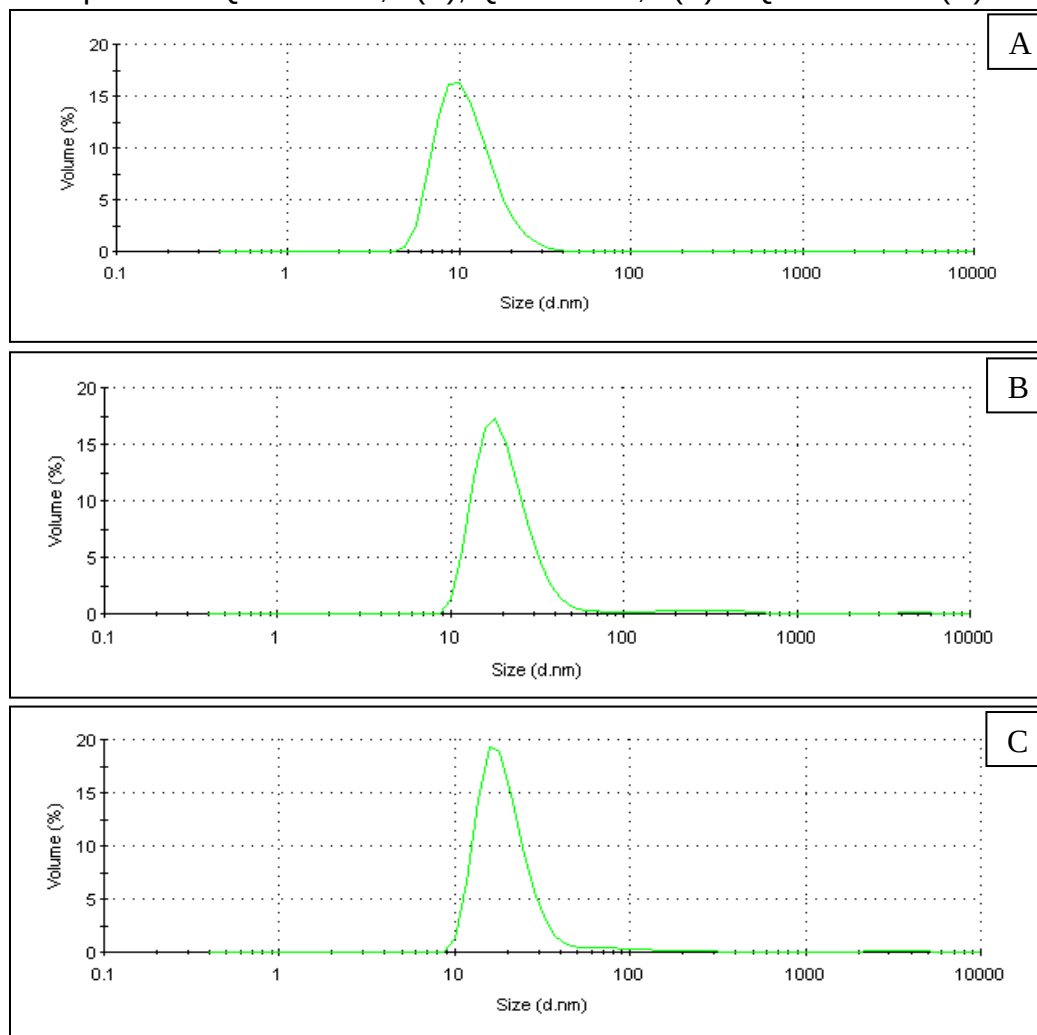


Fonte: Elaborada pela autora.

Dados reportados da literatura mostram que nanopartículas de quitosana formadas através de gelificação ionotrópica com tripolifosfato mostram resultados semelhantes, onde o diâmetro das partículas para as razões QT:TPP 2:1 a 4:1 houve uma redução no tamanho da partícula porém, aumentou o diâmetro com o aumento das razões QT:TPP 5:1 a 8:1(KOUKARAS *et al.*, 2012).

A Figura 23 mostra os perfis de distribuição no tamanho de partícula das amostras incorporadas QTGC-Pr 1,0, QTGC-Pr 5,0 e QTGC-Pr 10. As amostras apresentaram perfil unimodal, com tamanho médio de $10,77 \pm 0,34$ nm para QTGC-Pr 1,0 e $17,4 \pm 0,49$ nm para QTGC-Pr 10. Os valores médios de tamanho de partícula diminuíram com a adição do fármaco comparado com os CPEs de razão 1,0, 5,0 e 10.

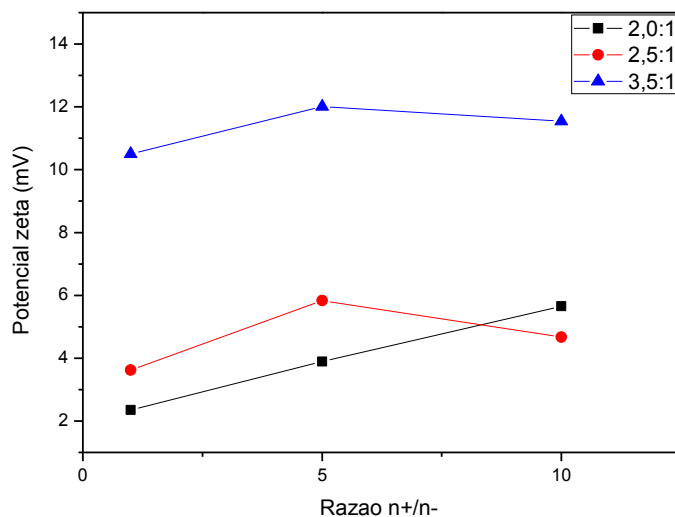
Figura 23 – Perfis de distribuição por volume para os CPes incorporados: QTGC-Pr 1,0 (A); QTGC-Pr 5,0 (B) e QTGC-Pr 10 (C)



Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados dos potenciais zeta para as nanopartículas QTGC-Pr 1,0, QTGC-Pr 5,0 e QTGC-Pr 10 obtidos nas diferentes razões QT:TPP estão ilustrados na Figura 24. Os valores dos potenciais para as nanopartículas com razão QT:TPP 2:1 aumentam da QTGC-Pr 1,0 para a QTGC-Pr 10. Isso pode ser explicado pelo fato de que a amostra QTGC-Pr 10 possui em sua superfície mais grupos positivos NH_3^+ disponíveis possíveis de interagir com os grupos aniônicos do TPP (LUO *et al.*, 2010). Observou-se que para a amostra QTGC-Pr 10 com razão QT:TPP 2:1, a adição do TPP levou a uma completa turvação da amostra. O TPP adicionado pode ter interagido completamente com as cargas positivas do CPes e com as cargas positivas da primaquina possivelmente livre.

Figura 24 – Relação entre o Potencial zeta e razão n+/n- dos CPEs QTGC-Pr para as diferentes razões QT:TPP.



Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se uma relação direta entre o potencial zeta e a razão QT:TPP para as nanopartículas estudadas. Resultados semelhantes reportados da literatura mostram que em nanopartículas de QT/TPP, quanto menor a razão QT:TPP menor será o potencial zeta da nanopartícula (Fan e col., 2012; Janes e Alonso, 2003).

Os valores do potencial para as análises do sobrenadante das amostras pode ser observado na Tabela 9.

Tabela 9 – Valores do potencial zeta para o sobrenadante dos CPEs incorporados.

Amostra	Razão QT:TPP	ζ (mV)	%
QTGC-Pr 1,0	2:1	2,35	97
	2,5:1	3,62	98,5
	3,5:1	10,5	96,5
QTGC-Pr 5,0	2:1	3,89	98,5
	2,5:1	5,83	100
	3,5:1	12,01	100
QTGC-Pr 10	2:1	5,65	96,5
	2,5:1	4,67	100
	3,5:1	11,54	100

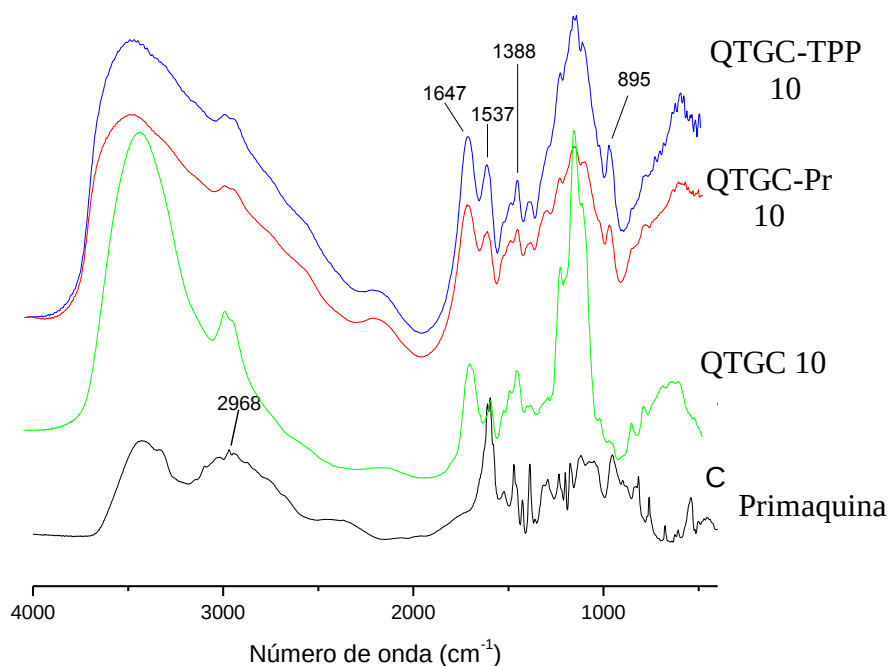
Fonte: Elaborada pela autora.

4.2.3 Caracterização do GEL – QTGC-Pr 10.

4.2.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Observa-se na Figura 25 que o espectro da amostra QTGC-Pr 10 (A) que a banda em 3358 cm^{-1} tornou-se mais ampla e achatada, indicando que a ligação de hidrogênio foi reforçada (Wu e col., 2005). Os picos de amida I e amida II em nanopartículas de QT / TPP deslocado para 1.635 e 1.558 cm^{-1} , respectivamente, devido à interação eletrostática entre os grupos fosfórico do TPP e os grupos amino da QT (Shah *et al.*, 2009). Resultado semelhante foi observado na literatura em nanopartículas de QT/TPP (Xu e Du, 2003) e em filmes de quitosanas tratados com fosfato (NaH_2PO_4), o deslocamento e alargamento de algumas bandas foi atribuída à interação entre o grupo amino e o ânion fosfato (Knaul *et al.*, 1999). Os outros picos observados foram os da ligação $\text{P}=\text{O}$ em 1201 cm^{-1} e a ligação $\text{O}-\text{P}$ em 893 cm^{-1} .

Figura 25 – Espectros de infravermelho para o gel QTGC-Pr 10, o CPE QTGC- 10, QTGC-TPP 10 e primaquina.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.2.3.2 Análise térmica

A Figura 26 mostra as curvas termogravimétricas para o CPE QTGC 10 e QTGC-Pr 10-GEL. Os dados referentes à perda de massa e as temperaturas de pico para cada evento térmico podem ser observados na Tabela 10.

Observa-se uma redução nos eventos ao incorporar o fármaco no CPE. Na amostra QTGC-Pr 10-GEL houve apenas dois eventos térmicos o de perda de umidade da amostra com temperatura de decomposição em torno de 50 °C, apresentando uma perda de 12% em massa. O outro evento observado se deve a decomposição do gel formado pelo CPE, a primaquina e o TPP.

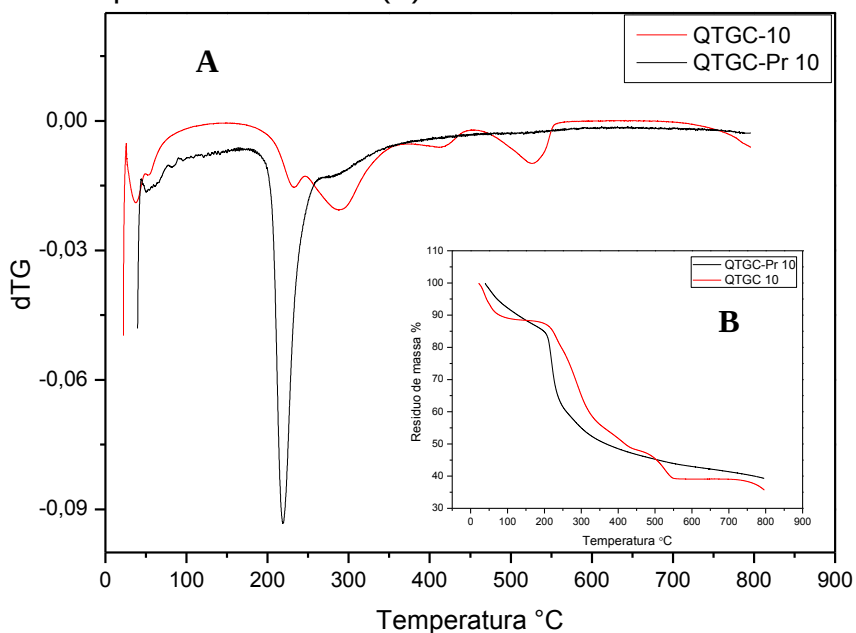
Tabela 10 – Eventos térmicos da análise termogravimétrica para os CPEs de razão n+/n- 0,5, 1,0 e 10.

Amostra	Evento	Temperatura de pico °C	Perda de massa %
QTGC 10	1	39	12
	2	288	34
	3	417	7
	4	527	7
	5	794	4
		Massa residual à 800°C = 36%	
QTGC-Pr 10-GEL	1	51	12
	2	219	49
		Massa residual à 800°C = 39%	

Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se que na faixa de temperatura de 150 a 550 °C o gel é mais estável que o CPE QTGC 10.

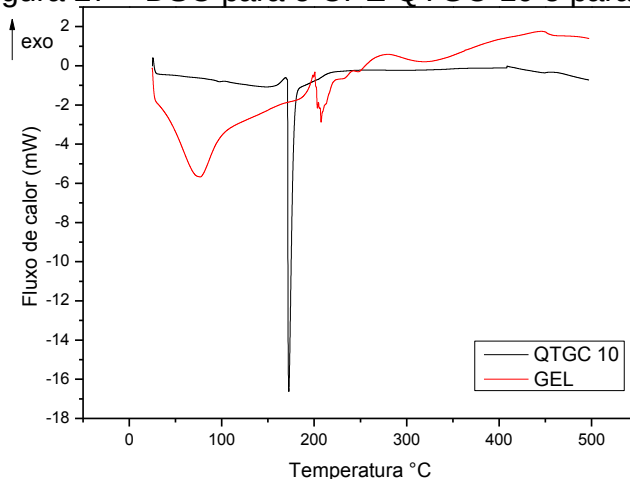
Figura 26 - Curvas de dTG para o CPE QTGC-10 e para o GEL QTGC-Pr 10 (A) e curvas termogravimétricas para as respectivas amostras (B).



Fonte: Elaborada pela autora.

A análise por DSC para o CPE QTGC 10 e para o GEL QTGC-Pr 10, está ilustrada na Figura 27. O gel QTGC-Pr 10 apresenta dois picos de transição endotérmica em 76 °C e 206 °C e dois picos de transição exotérmica, um em torno de 278 °C e outro em 445 °C. Os picos endotérmicos são referentes à perda de umidade pela amostra e os picos exotérmicos são oriundos da decomposição dos polissacarídeos (PAULA *et al.*, 2010b).

Figura 27 – DSC para o CPE QTGC-10 e para o GEL QTGC-Pr.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.2.3.3 Teor de fármaco encapsulado (dopagem)

O teor de primaquina na amostra foi determinado pesando 11,5 mg da amostra QTGC-Pr 10-GEL e solubilizando em 10ml de água deionizada permanecendo sob agitação por 24 horas. Usando a equação 3 descrita anteriormente, obteve-se uma dopagem de 9,35%.

4.2.3.4 Análise do tamanho de partícula e potencial zeta

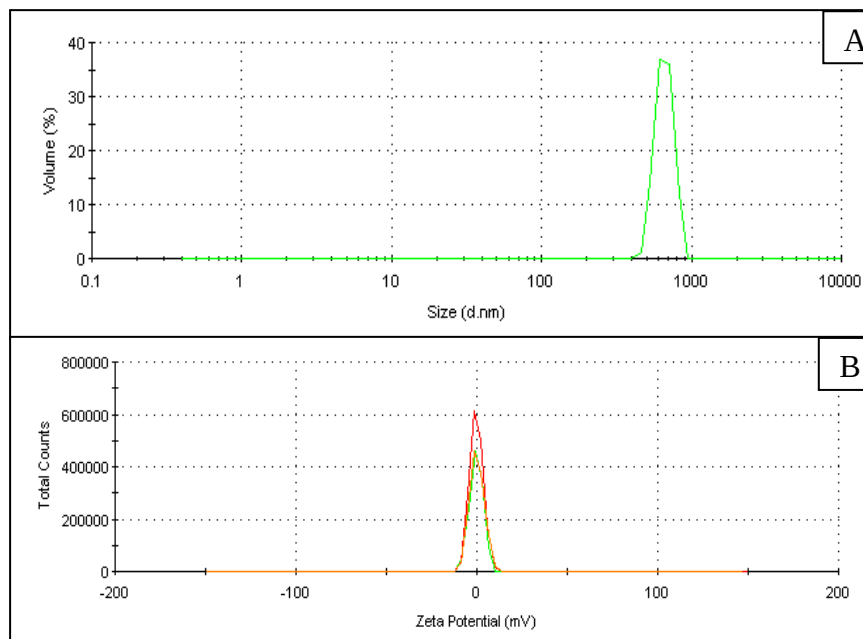
A amostra QTGC-Pr 10-GEL foi centrifugada e o gel obtido foi seco e redisperso para análise de tamanho de partícula e potencial zeta. Observa-se na Tabela 11 que o valor do tamanho de partícula para a amostra inicial QTGC-Pr 10 é de 17,4 nm. Porém após a adição do TPP, o tamanho de partícula do gel foi de 880 nm. O potencial zeta diminuiu com a adição do TPP. Isso pode ser explicado pelas interações dos grupos negativos do TPP com os grupos positivos do CPE, neutralizando as cargas superficiais. A Figura 28 mostra os perfis de distribuição de tamanho de partícula e potencial zeta para a nanopartícula com o fármaco.

Tabela 11 – valores dos diâmetros e do potencial zeta das partículas antes e após a adição do TPP.

Amostra	Diâmetro (nm)	% volume	Potencial (mV)
QTGC- Pr 10	17,40 ± 0,49	99,75	+ 26,75 ± 0,39
QTGC-Pr 10 -GEL	880 ± 1,53	100	0,03 ± 0,01

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 28 – Perfis de distribuição de tamanho de partícula (A) e potencial zeta (B) para a amostra QTGC-Pr 10 - GEL

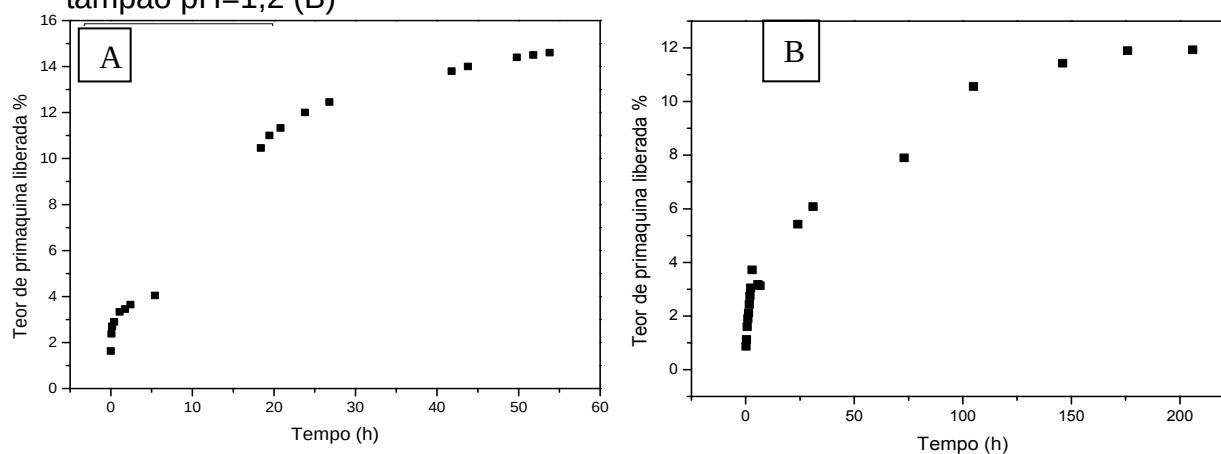


Fonte: Elaborada pela autora.

4.2.3.5 Cinética de liberação *in vitro*

Para a construção do gráfico de cinética da amostra QTGC-Pr 10-GEL expressa em teor de fármaco liberado % versus tempo (h), calculou-se o perfil de liberação para a amostra QTGC-Pr 10 - GEL. Os perfis obtidos podem ser observados na Figura 29.

Figura 29 – Perfil de liberação *in vitro* de primaquina em tampão pH=7,4 (A) e tampão pH=1,2 (B)



Fonte: Elaborada pela autora.

A cinética de liberação foi realizada apenas com a amostra QTGC-Pr 10 por apresentar a maior eficiência de encapsulamento. A cinética foi realizada em tampão fosfato pH 7,4 e pH 1,2 a 37°C. Observou-se que para o tampão com pH= 7,4, aproximadamente 14% de primaquina foi liberada em 50 horas de ensaio.

Ao realizar a liberação de doxorubicina em tampão pH= 7,4, a partir de nanopartículas de quitosana e sulfato de condroitina, Tsai e col., (2011) observaram que em 100 horas de ensaio, menos de 40% do fármaco havia sido liberado.

Na cinética realizada com tampão pH=1,2 observou-se uma liberação mais lenta onde obteve-se uma estabilidade do teor de fármaco liberado em aproximadamente 200 horas de ensaio liberando cerca de 12% do fármaco.

Determinou-se também o tipo de mecanismo cinético mais apropriado apresentado nas liberações de primaquina pelo CPE. Os coeficientes de correlação para os diferentes modelos cinéticos estão expressos na Tabela 12.

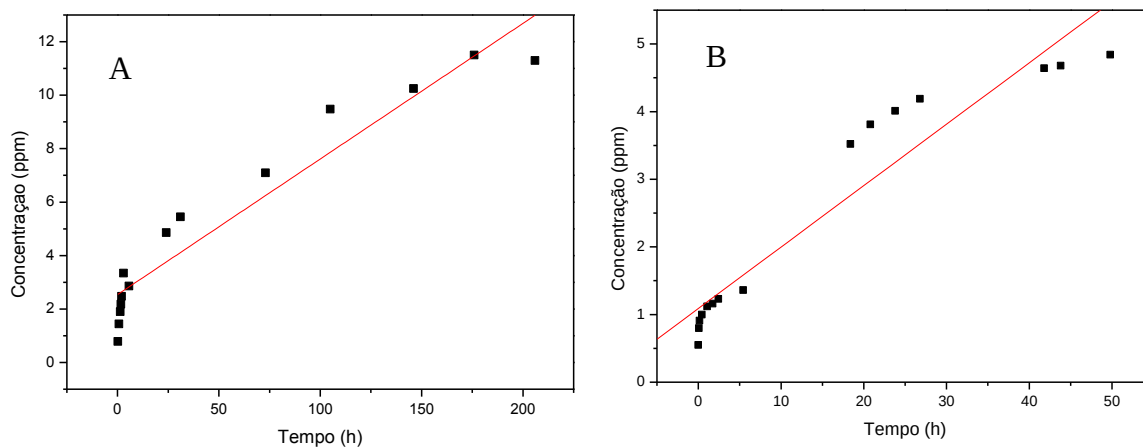
Tabela 12 – Coeficientes de correlação para os modelos cinéticos estudados.

Matriz QTGC-Pr 10- GEL	Coeficiente de correlação (r^2)				
	Ordem zero	Primeira ordem	Segunda ordem	Higuchi	Korsmeyer – Peppas
pH=1,2	0,91	0,68	0,32	0,98	0,96
pH= 7,4	0,95	0,91	0,82	0,98	0,95

Fonte: Elaborada pela autora.

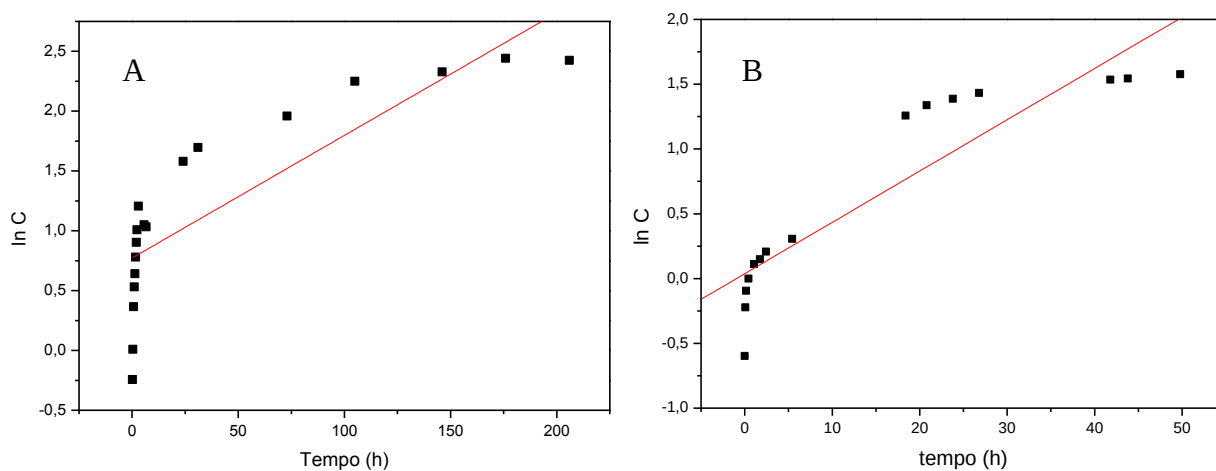
Pode-se observar que o modelo de Higuchi apresentou o melhor coeficiente, seguidos pelos modelos de Korsmeyer-Peppas e de ordem zero. Portanto, a liberação do fármaco nos dois pH estudados segue o modelo de Higuchi. Nesse modelo cinético um fármaco homogeneamente disperso e dissolvido em uma matriz polimérica tende a difundir-se através da mesma. A entrada do líquido na matriz polimérica favorece seu intumescimento, dissolução e consequente difusão do fármaco até a superfície do polímero. Esse intumescimento aumenta a distância percorrida pelo fármaco e sua liberação torna-se mais lenta (SINKO, 2006).

Figura 30 – Modelo cinético de ordem zero. pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).



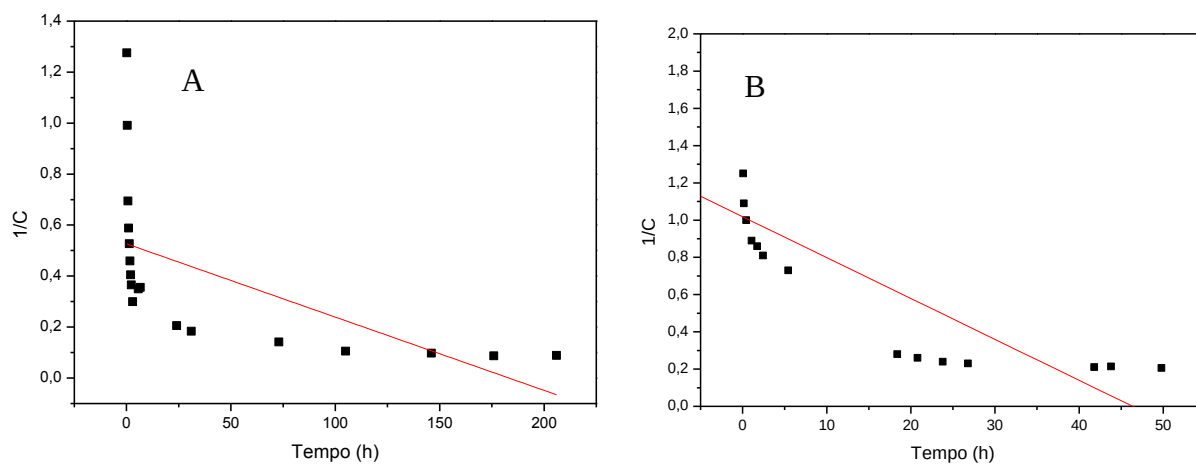
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 31 – Modelo cinético de primeira zero pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).



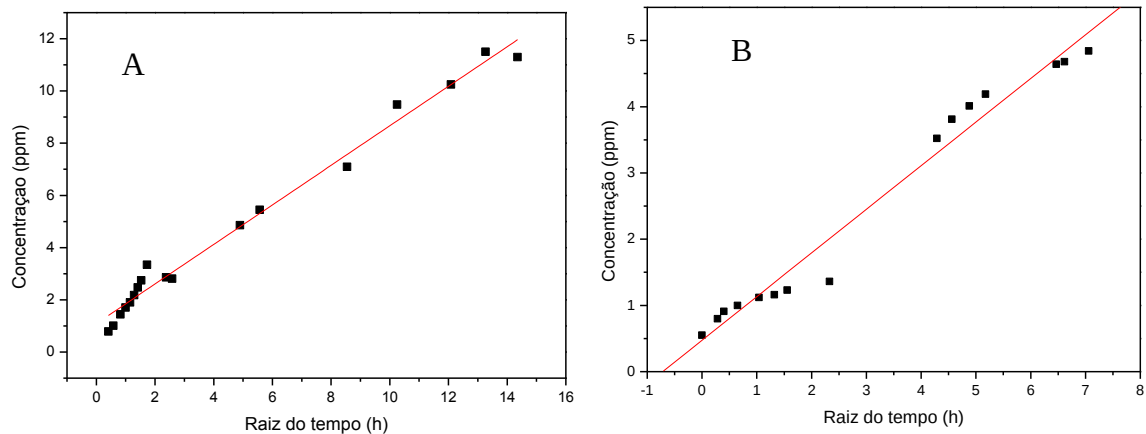
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 32 – Modelo cinético de segunda ordem em pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).



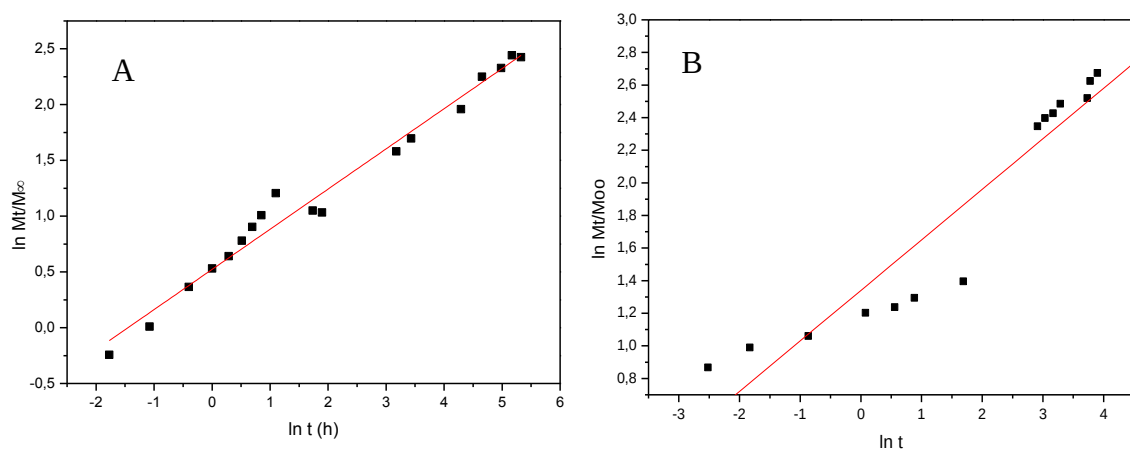
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 33 – Modelo cinético de Higuchi em pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B).



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 34 – Modelo cinético de Korsmeyer-Peppas em pH=1,2 (A) e pH=7,4 (B)



Fonte: Elaborada pela autora.

5 CONCLUSÕES

Nanopartículas de quitosana e goma do cajueiro foram obtidas via complexação eletrolítica. O efeito da ordem de adição, a concentração dos polieletrólitos e o índice de polidispersão foram investigados. Os tamanhos das partículas foram diretamente proporcionais à concentração dos polieletrólitos. Os complexos QTGC 0,1% apresentaram tamanho de partícula maior que os complexos QTGC 0,05%. O estudo da ordem de adição das soluções eletrolíticas mostrou que a adição de QT em GC leva a um tamanho de partícula relativamente maior que as nanopartículas formadas por GC em QT. O índice de polidispersão apresentou comportamento semelhante para as razões de cargas estudadas. A primaquina foi encapsulada nas amostras QTGC 1,0, QTGC 5,0 e QTGC 10. Parâmetros como eficiência de encapsulamento, teor de fármaco incorporado, tamanho e distribuição de partículas, potencial zeta, espectroscopia na região do infravermelho e análise térmica foram analisados. As amostras apresentaram uma eficiência de encapsulamento variando de 5,8 a 32 % para a razão QT:TPP - 2:1, de 6,0 a 12 % para a razão QT:TPP - 2,5:1 e 2,8 a 3,9 % para a razão QT:TPP - 3,5:1. Dentre as amostras de razão QT:TPP - 2:1, a QTGC-Pr 10 com excesso de cargas positivas, obteve a maior eficiência de encapsulamento, 32%. As amostras QTGC-Pr 1,0 e QTGC-Pr 5,0 apresentaram uma eficiência de encapsulamento inferior para a mesma razão QT:TPP estudada. O tamanho de partícula do gel obtido (QTGC-Pr 10-Gel) aumentou significativamente devido à adição do agente reticulante-TPP. O perfil de liberação in vitro mostrou que em pH 1,2 a liberação se mostrou mais lenta do que em pH 7,4, pois a estabilidade na liberação foi alcançada com aproximadamente 200 horas de ensaio liberando apenas 12% do fármaco. Em pH 7,4, apenas 14% do fármaco foi liberado sendo estabilizado com 50 horas de ensaio. As nanopartículas incorporadas com primaquina podem ser consideradas promissoras como proposta de matriz para a liberação controlada do fármaco.

REFERÊNCIAS

- ABDELWAHED, W.; DEGOBERT, D.; STAINMESSE, S.; FESSI, H. Freeze drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. **Advanced Drug Delivery**, [s.l.], v. 58, p. 1688-1713, 2006.
- ANDRADE, S. L. **Aspectos Epidemiológicos da Malária no Parque Nacional do Jaú, Amazonas, Brasil**. 2005. 13f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.
- ANITHA, A.; DEEPAGAN, V.; RANI, D.; MENON, D.; NAIR, V.; JAYAKUMAR, R. Preparation, characterization, in vitro drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 84, p. 1158-1164, 2011.
- AL-BADR, A.A., Primaquine Diphosphate: Comprehensive Profile. **Profiles of Drugs Substances, Excipients and Related Methodology**, [s.l.], v.32, p. 153-208, 2005.
- AUMELAS, A.; SERRERO, A.; DURAND, A.; DELLACHERIE, E.; LEONARD, E. Nanoparticles of hydrophobically modified dextrans as potential drug carrier systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 59, p. 74–80, 2007.
- AVADI, M. R.; SADEGHI, A. M.; DOUNIGHI, N.; DINARVAND, R.; ATYABI, F.; RAFIEE-TEHRANI, M. Ex Vivo Evaluation of Insulin Nanoparticles Using Chitosan and Arabic Gum. **International Scholarly Research Network ISRN Pharmaceutics**, doi: 10.5402/2011/860109, 2011.
- BAJPAI, U. D. N.; JAIN, A.; RAI, S. Grafting of acrylamide onto guar gum using KMnO₄/oxalic acid redox system. **Journal Applied Of Polymer Science**, [s.l.], v. 39, p. 2187-2204, 1990.
- BARROS, L. M. Botânica, origem e distribuição geográfica. In.: ARAÚJO, J. P. P.; SILVA, V. V. (Org.). **Cajucultura: modernas técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPc, 1995. p. 55-71.
- BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELTO., GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 57, p. 35-52, 2004.
- BHATTARAI, N. *et al.* PEG-grafted chitosan as an injectable termosensitive hydrogel for sustained protein release. **Journal of controlled Release**, [s.l.], vol. 103, p. 609-624, 2005.
- BUENO, W. A. **Manual de Espectroscopia Vibracional**. São Paulo: McGraw-Hill, 1990.
- CHEM, C-Y.; CHANG, J-C.; CHEN, A-H. Competitive biosorption of azo dyes from aqueous solution on the template crosslinked-chitosan nanoparticles. **Journal of**

Hazardous Materials, [s.l.], v. 185, p. 430-441, 2011.

CUNHA, P.L.R.; DE PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A. Polissacarídeos na biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, p. 649-660, 2009.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITEB, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical Applications. **Progress in Polymer Science**, [s.l.], v. 36, p. 981-1014, 2011.

DE PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Carbohydrate Polymer**, [s.l.], v. 26, p. 177-181, 1995.

DE PAULA, R. C. M.; BUDD, P. M.; RODRIGUES, J. F. Characterization of *Anadenanthera macrocarpa* exudate polysaccharide. **Polymer International**, [s.l.], v. 44, p. 55-60, 1997.

DE PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Composition of *Anacardium occidentale* exsudate polysaccharide. **Polymer International**, [s.l.], v. 45, p. 27-35, 1998.

FAN, W.; WEI YANB, ZUSHUN XUB, HONG NI. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 90, p. 21-27, 2012.

FOLEY, M.; TILLEY, L. Quinoline antimalarials: Mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. **Pharmacology & Therapeutics**, Amsterdam, v. 79, p. 55-87, 1998.

GAF, R., Structure of chitin and chitosan. In: Roberts GAF, editor. **Chitin chemistry**. Houndmills: Macmillan; p. 1–53. 1992.

GLYPHIS, J.P.; PUTTICK, G.M. Phenolics in some Southern African Mediterranean shrubland plants. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 27, p. 743-751, 1998.

GUCHT, J. V.; SPRUIJT, E.; LEMMERS, M.; STUART, M. A. C. Polyelectrolyte complexes; Bulk phases and colloidal systems. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s.l.], v. 361, p. 407-422, 2011.

GUILHERME, M. R.; CAMPESE, G. M.; RADOVANOVIC, E. RUBIRA, A. F.; FEITOSA, J. P. A. Morphology and water affinity of superabsorbent hydrogels composed of methacrylated cashew gum and acrylamide with good mechanical properties. **Polymer**, [s.l.], v. 46, p. 7867-7873, 2005.

HAJDU, I. *et al.* Nanoparticles prepared by self-assembly of Chitosan and poly-γ-glutamic acid. **Journal of Colloid and Polymer Science**, v. 286, p. 343-350, 2008.

HORNIG, S.; HEINZE, T. Nanoscale structures of dextran esters. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 68, p. 280-286, 2007.

HU, B.; HUANG, Q. R.; ZENG, X. X. Assembly of Nanoparticles from Bioactive Peptides and Chitosan. **MRS Proccedings**, [s.l.], v. 1312, 2011.

JAYAKUMAR R.; NWE N.; TOKURA S.; TAMURA H. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. **International Journal Biological Macromolecules**, [s.l.], v 40, p.175–81, 2007.

KRETTLI, A. U.; ANDRADE-NETO, V. F.; BRANDAO, M. G.; FERRARI, W. M. S. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malária or plants randomly selected: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 96, p. 1033-1042, 2001.

KOUKARAS, E.N.; PAPADIMITRIOU, S.A.; BIKIARIS, D.N.; FROUDAKIS, G.E. Insight on the Formation of Chitosan Nanoparticles through Ionotropic Gelation with Tripolyphosphate. **Molecular pharmaceutics**, [s.l.], v. 9, p. 2856–2862, 2012.

KUMAR, M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications. **Reative & Funcional Polymers**, [s.l.], v. 46, p. 1-27, 2000.

JANES, K.A., ALONSO, M.J., Depolymerized Chitosan Nanoparticles for Protein Delivery: Preparation and Characterization. **Journal of Applied Polymer Science**, [s.l.], v. 88, p. 2769–2776, 2003.

LAWRIE, G.; KEEN, I.; DREW, B.; CHANDLER-TEMPLE, A.; RINTOUL, L.; FREDERICKS, P.; GRONDAHL, L. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 8, p. 2533-2541, 2007.

LI, P.; DAI, Y.; ZHANG, J.; WANG, A.; WEI, Q. Chitosan-alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. **International Journal of Biomedical Science**, [s.l.], v. 4, p. 221-228, 2008.

LEMARCHAND, C. RUXANDRA, G.; COUVREUR, P. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 58, p. 327-341, 2004.

MACIEL, J. S.; SILVA, D. A.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability. **European Polymer Journal**, [s.l.], v. 41, p. 2726-2733, 2005.

MAO, HQ.; ROY, K.; TROUNG-LE, VL.; JANES, KA.; LIN, KY.; WANG, Y.; AUGUST, JT.; LEONG, KW. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carries: synthesis, characterization and transfection efficiency. **Journal of Control Release**, [s.l.], v. 70, p. 399-421, 2001.

MONTHÉ, C. G. Produção de goma de cajueiro (2000), patente nº PI0004114.

MUZZARELLI, R. Natural chelating polymers; alginic acid, chitin, and chitosan. **International series of monographs in analytical chemistry**, Oxford, New York, Pergamon Press, v. 55, 1973.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. Ed.11. São Paulo, Atheneu, p. 143-161, 2007.

OLIVEIRA, M.; CIARLINI P.; FEITOSA, J.; PAULA, R.; PAULA, H. Chitosan/"angico" gum nanoparticles: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering C**, [s.l.], v. 29, p. 448-451, 2008.

OLIVEIRA, M. A. Síntese de nanopartículas a base do polissacarídeo *Anadenanthera macrocarpa* (Angico) como matriz para incorporação de fármacos. **Tese de Doutorado em Química Inorgânica** - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2010.

PAULA, H. C. B.; SOMBRA, F.M.; ABREU, F. O. M. S.; DE PAULA, R. C. M. *Lippia sidoides* essential oil encapsulation by angico gum/chitosan nanoparticles. **Journal of Brazillian Chemical Society**, [s.l.], v. 21, p. 2359-2366, 2010b.

PIMENTEL, L. F.; JUNIOR, A. T. J.; MOSQUEIRA, V. C. F.; MAGALHÃES, N. S. S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s.l.], v. 43, nº. 4, 2007.

PINTO REIS C, NEUFELD RJ, RIBEIRO AJ, VEIGA F. Nanoencapsulation I.Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine**, [s.l.], v. 2(1), p. 8–21, 2006.

RODRIGUES, J. F., DE PAULA, R. C. M., COSTA, S. M. O. Métodos de isolamento de gomas naturais e comparação através de goma de cajueiro. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, [s.l.], v. 1, p. 31-36, 1993.

SARMENTO, B.; FERREIRA, D.C.; JORGENSEN, L.; VAN de WEERT, M. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 65, p.10-17, 2007a.

SCHATZ, C.; DOMARD, A.; VITON, C.; PICHOT, C.; DELAIR, T. Versatile and efficient formation of colloids of biopolymer-based polyelectrolyte complexes. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 5, p. 1882-1892, 2004a.

SCHATZ, C.; LUCAS, J.; VITON, C.; DOMARD, A.; PICHOT, C.; DELAIR, T. Formation and properties of positively charged colloid based on polyelectrolyte complexes of biopolymers. **Langmuir**, [s.l.], v. 20, p. 7766-7778, 2004b.

SEATHER, H. V.; MAURSTAD, G.; SMIDSRØD, O.; STOKKE, B.T. Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 74, p. 813-821, 2008.

SHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; FILHO, J. L. L.; LEÃO, A. M. A.

C. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de camundongos. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 36, p. 149-154, 2006.

SHU, S.; ZHANG, X.; TENG, D.; WANG, Z.; LI, C. Polyelectrolyte nanoparticles based on water-soluble chitosan-poly(L-aspartic acid)-polyethylene glycol for controlled protein release. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 344, p. 1197-1204, 2009.

SILVA, D. A.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Synthesis and characterization of cashew gum/acrylic acid nanoparticles. **Materials Science and Engineering**, [s.l.], v. 29, p. 437-441, 2009.

SINKO, P. J. Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Science. 5th ed., Philadelphia: **Lippincott Williams & Wilkins**, [s.l.], p. 795, 2006.

SWEETMAN, S.C. Martindale: The complete drug reference. Ed. London **Pharmaceutical Press**, [s.l.], v. 36, p. 608-609, 2009.

TSAI, H-Y., CHIU, C-C.; LIN, P-C., CHEN, S-H.; HUANG, S-J.; WANG, L-F. Antitumor efficacy of doxorubicin released from crosslinked nanoparticulate chondroitin sulfate/chitosan polyelectrolyte complexes. **Macromolecular Bioscience**, [s.l.], v. 11, p. 680-688, 2011.

VAUTHIER, C.; DUBERNET, C.; FATTALI, E.; PINTO-ALPHANDARY, H.; COUVREY, P. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 55, p. 519-548, 2003.

WANG, Y. Y.; JIANG, Q.; LIU, L. R.; ZHANG, Q. Q. The interaction between bovine serum albumin and the self-aggregated nanoparticles of cholesterol-modified carboxymethyl chitosan. **Polymer**, [s.l.], v. 48, p. 4135-4142, 2007.

WHISTLER, R. L. Industrial gums: polysaccharides and their derivatives. 3 ed. **Nova Iorque: Academic press**, [s.l.], cap. 12, 1993.

ZHANG, Y.; YANG, Y.; TANG, K.; HU, X.; ZOU, G. Physicochemical characterization and antioxidant activity of quercetin-loaded chitosan nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, [s.l.], v. 107, p. 891-897, 2008.

ZHENG, Y. et al. Nanoparticles based on the complex of chitosan and polyaspartic acid sodium salt: Preparation, characterization and the use for 5-fluorouracil delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 67, p. 621-631, 2007.

ZHAO, Q.; QIAN, J.; AN, Q.; GAO, C.; GUI, Z.; Jin, H. Synthesis and characterization of soluble chitosan/sodium carboxymethyl cellulose polyelectrolyte complexes and the pervaporation dehydration of their homogeneous membranes. **Journal Membrane Science**, [s.l.], v. 333, p. 68-78, 2009.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polymer Testing**, [s.l.], v. 23, p. 575-579, 2004.