



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

GUILHERME AUGUSTO MAGALHÃES JÚNIOR

**SÍNTESE DE MICROESFERAS E NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA
DO CHICHÁ (*Sterculia striata*) COMO MATRIZ PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE FÁRMACO PARA O TRATAMENTO DA MALÁRIA**

FORTALEZA

2012

GUILHERME AUGUSTO MAGALHÃES JÚNIOR

Síntese de microesferas e nanopartículas de quitosana e goma do chichá (*Sterculia striata*) como matriz para liberação controlada de fármaco para o tratamento da malária

Tese submetida à coordenação do programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química com área de concentração em Polímeros.

Orientadora: Professora Dra. Regina Célia Monteiro de Paula

Co-Orientador: Professor Dr. Haroldo Cesar Beserra de Paula

FORTALEZA

2012

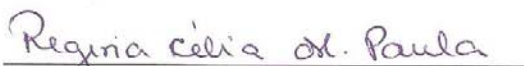
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

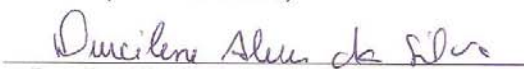
-
- M164s Magalhães Júnior, Guilherme Augusto.
 Síntese de microesferas e nanopartículas de quitosana e goma do chichá (*Sterculia striata*) como matriz para liberação controlada de fármaco para o tratamento da malária / Guilherme Augusto Magalhães Júnior. – 2012.
 151 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciência, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2012.
 Área de Concentração: Química.
 Orientação: Profa. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula.
 Coorientação: Prof. Dr. Haroldo Cesar Beserra de Paula.
1. *Sterculia striata* – goma oxidada. 2. Cloroquina. 3. Nanotecnologia - química. I. Título.

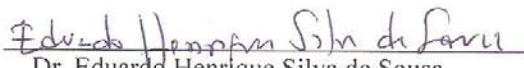
Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química, área de concentração Química, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.



Guilherme Augusto Magalhães Júnior

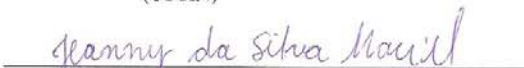
Tese aprovada em: 20/04/2012


Dra. Regina Célia Monteiro de Paula
(Orientadora-UFC)


Dra. Durcilene Alves da Silva
(UFPI)


Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa
(UFC)


Dr. José Luís Cardozo Fonzeca
(UFRN)


Dra. Jeanny da Silva Maciel
(UFC)

Aos meus pais por todo o suporte,
confiança e incentivo aos estudos
durante toda a minha vida.

À professora Regina pela dedicação e orientação ao longo destes oitos anos.

AGRADECIMENTOS

À minha segunda mãe, Zilma, por todos os carinhos e mimos durante toda a minha vida.

Aos meus irmãos, Danielle, Rafael e Régis, pela vivência tranquila e amigável.

À Tayana, que apesar dos desencontros causados pela vida, esteve ao meu lado durante boa parte da realização deste trabalho.

À Jeanny, pelos ensinamentos práticos durante minha iniciação e meu mestrado.

À Patrícia, pelo incentivo no término deste trabalho.

Ao professor Haroldo por seu conhecimento compartilhado.

As professoras Judith, Pablina, Sandra e Nágila por toda a ajuda que precisei delas sempre me atenderam com muita dedicação.

Ao meu amigo Érico pela ajuda nos experimentos e nos momentos de descontração durante a realização deste trabalho.

Ao meu amigo Paulo Roberto, pelos caminhos que enfrentamos juntos.

À Marília pelas ideias trocadas durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus amigos poliméricos Venícius e Ana Rosa e Natalia pelas ajudas prestadas.

Aos meus amigos poliméricos, pela convivência de amizade e companheirismo durante toda essa jornada.

Ao Orlando por sua ajuda e seu bom humor.

A CAPES, CNPQ, FUNCAP, rede Nanoglicobiotec e INOMAT pelo apoio financeiro.

Ao CENAURENM pelos RMN.

Deus permitiu a existência das quedas d'água para aprendermos quanta força de trabalho e renovação podemos extrair de nossas próprias quedas.

(William Shakespeare)

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo a síntese e caracterização de nano e micropartículas para liberação de fármaco para tratamento da malária. Microesferas de quitosana de alta massa molar (QTa) e goma do chichá (CH) foram sintetizadas por complexação polieletrólítica e reticuladas com glutaraldeído. Os diâmetros das microesferas reticuladas e não-reticuladas foram de $544 \pm 3 \mu\text{m}$ e $558 \pm 2 \mu\text{m}$, respectivamente. As esferas reticuladas não foram solúveis em meio ácido (pH 1,2). Ensaio de intumescimento mostraram que as microesferas intumesciam mais em pH 1,2 do que em pH 7,4 e que as reticuladas possuíam menor intumescimento do que as não reticuladas. A liberação sequenciada de cloroquina, a partir das microesferas, foi realizada por 2 h em pH 1,2 seguida por uma liberação em pH 7,4. A microesfera reticulada liberou 64% da cloroquina em pH 1,2, com um total do fármaco liberado de 92%. O perfil de liberação da mesma amostra em pH 7,4 apresenta uma liberação controlada do fármaco por cerca de 50 h. Nanopartículas de QT e CH foram produzidas utilizando como rotas de síntese a complexação polieletrólítica e formação de base de Schiff. Na formação de complexos polieletrólíticos parâmetros como massa molar da quitosana, razão molar de carga (n^+/n^-), ordem de adição e concentração dos polieletrólitos influenciam no tamanho, potencial zeta, índice de polidispersividade e estabilidade das nanopartículas em solução. O potencial zeta das partículas com excesso de QT é positivo e quando se diminui a razão molar de carga (n^+/n^-) para 0,1 o potencial torna-se negativo devido o excesso de chichá. Os diâmetros das nanopartículas variaram de 80 a 1200 nm dependendo da concentração dos polieletrólitos e da quitosana utilizada. Nanopartículas formadas por quitosana de baixa massa molar (QTb) possuem tamanho maior do que as formadas por quitosana de alta massa molar (QTa). Quando a razão de cargas (n^+/n^-) e a concentração dos polieletrólitos diminuem o tamanho das nanopartículas também diminui. Na liberação da cloroquina em matrizes de CH, QTa e QTb de razão 5 e 0,1 duraram cerca 15 dias liberando até 99% do fármaco, porém apenas a razão de cargas influenciou no perfil da liberação. Nanopartículas formadas via base de Schiff foram preparadas. A influência de parâmetros tais como: grau de oxidação da goma do chichá, massa molar da quitosana, ordem de adição e razão entre as massas dos polissacarídeos foram investigados em relação ao tamanho, potencial zeta e estabilidade. O potencial zeta

mostrou-se positivo para partículas com excesso de QT e negativo para partículas com excesso de CH. Os diâmetros das partículas variaram de 30 a 450 nm, dependendo do grau de oxidação do CH e da massa molar de QT. Para goma do chichá com menor grau de oxidação nanopartículas de QTa apresentaram-se maiores do que as formadas por QTb, e para a goma com maior grau de oxidação nanopartículas de QTb possuíam maiores tamanhos do que as formadas por QTa.

Palavras-chave: Nanopartículas. Microesferas. Quitosana. Goma do Chichá. Goma do Chichá Oxidada. Complexo Polieletrólítico. Base de Schiff. Liberação de Fármaco.

ABSTRACT

The aim of this work was the synthesis and characterization of nano and microparticles for malaria drug delivery system. Chitosan microspheres of high molar mass (QTa) and chichá gum (CH) were synthesized by polyelectrolyte complexation and crosslinked with glutaraldehyde. The diameters of the microspheres crosslinked and non-crosslinked were $544 \pm 3 \mu\text{m}$ and $558 \pm 2 \mu\text{m}$, respectively. The crosslinked beads were not soluble in acidic medium (pH 1.2). The swelling of microspheres was higher in pH 1.2 and that the crosslinked beads have less swelling than non-crosslinked. The sequential release of chloroquine from the microspheres was performed for 2 h followed by a release in pH 7.4. The crosslinked microsphere released 64% of chloroquine at pH 1.2, with a total of drug released of 92%. The release profile of the same sample at pH 7.4 provides a controlled release of the drug for about 50h. QT and CH nanoparticles were prepared using polyelectrolyte complexation and formation of Schiff base. In the formation of polyelectrolyte complex, parameters such as molecular weight of chitosan, the molar ratio of charge (n^+/n^-), order of addition and concentration of the polyelectrolyte influence the size, zeta potential, polydispersity index and stability of the nanoparticles in solution. The zeta potential of particles in excess of QT was positive and when the charge molar ratio (n^+/n^-) decreases to 0.1 the potential becomes negative due to the excess of CH. The nanoparticles diameters vary from 80 to 1,200 nm depending on the concentration of the polyelectrolyte and the chitosan used. Chitosan nanoparticles formed by a low molecular weight (QTb) were larger than those formed by chitosan of high molecular weight (QTa). The decrease of the charge ratio (n^+/n^-) and the polyelectrolyte concentrations lead to small size nanoparticle. The release of chloroquine in matrices of CH, QTa and QTb ratio ratio 5 and 0.1 lasted 15 days by releasing up to 99% of the drug, however only the ratio influenced the release profile. Nanoparticles formed by Schiff base reaction were produced. The influence of parameters such as degree of oxidation of CH, chitosan molar mass, addition and masses ration of polysaccharides on size, zeta potential and stability were investigated. The zeta-potential was positive for particles with an excess of QT and negative with excess CH. The particle diameters ranged from 30 to 450 nm, depending on the degree of oxidation of CH and the molar mass of QT. Particle formed with low oxidation of CH and high molar mass chitosan are bigger than those

formed with low molar mass chitosan. A inverse behavior was observed when high oxidated CH was used.

Keywords: Nanoparticles. Microspheres. Chitosan. Chichá Gum. Oxidized Chicha Gum. Polyelectrolyte Complex. Schiff Base. Release of Drug.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	(A) microesfera – o agente ativo está distribuído em uma matriz polimérica; (B) microcápsula – o agente ativo está envolvido pelo agente encapsulante (polímero).....	23
Figura 2 -	Métodos para preparação de esferas de quitosana.....	26
Figura 3 -	Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido a parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas.....	29
Figura 4 -	Esfera equivalente de um cilindro de altura de 100 μm e diâmetro de 20 μm	30
Figura 5 -	Diferentes medidas de tamanho de partícula para o mesmo grão de areia.....	31
Figura 6 -	Gráficos da distribuição por numero, volume e intensidade.....	32
Figura 7 -	Esquema da dupla camada elétrica.....	35
Figura 8 -	Esquema de uma partícula coloidal, carregada eletricamente.....	36
Figura 9 -	Unidades repetitivas da quitosana totalmente desacetilada (1) e quitina totalmente acetilada (2).....	38
Figura 10 -	Ilustração esquemática da quitosana. Em pH baixo (abaixo de 6,0), grupos aminos da quitosana estão protonados, conferindo comportamento policatiônico a quitosana. Em pH alto (acima de 6,5), aminos da quitosana estão desprotonada e reativas.....	39
Figura 11 -	Esquema da interação entre as cadeias de quitosana (polieletrólito catiônico) e um polieletrólito aniônico.....	42
Figura 12 -	Estrutura e intumescimento sensível ao pH do meio de um complexo contendo quitosana; carga negativa do outro polieletrólito: carga positiva da quitosana, interação iônica, quitosana, polieletrólito adicional.....	43
Figura 13 -	Modelo de reação de formação de Base de <i>Schiff</i>	44
Figura 14 -	Seletividade da reação de periodato de sódio com unidades de açúcar substituídas em diferentes posições.....	45

Figura 15 - Esquema da reação seletiva de oxidação de uma unidade de glucose da cadeia lateral de um polissacarídeo.....	47
Figura 16 - Representação estrutural do tripolifosfato.....	48
Figura 17 - Representações estruturais da molécula de glutaraldeído e demais agentes reticulantes.....	49
Figura 18 - Processo de reticulação da quitosana com glutaraldeído.....	50
Figura 19 - Representação esquemática da preparação de nanopartículas de quitosana pelo método de precipitação.....	51
Figura 20 - Representação esquemática de copolímeros tipo enxertado.....	52
Figura 21 - Esquema de reação de enxertia da quitosana.....	54
Figura 22 - Estrutura da goma <i>Sterculia urens</i>	56
Figura 23 - Estrutura representacional da molécula da 7 - Cloro - 4 - (4 - (dietilamino) - 1 - metilbutil - amino) quinolina.....	63
Figura 24 - Representação de um sistema de liberação controlada de fármaco.....	66
Figura 25 - Ilustração de sistema monolítico e reservatório.....	68
Figura 26 - Processo de difusão (A) e erosão (B) em matriz polimérica.....	69
Figura 27 - Sistema controlado por um mecanismo de expansão.....	69
Figura 28 - Espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de quitosana (QT), goma do chichá (CH) e esferas de QTCH reticuladas.....	81
Figura 29 - Intumescimento das esferas de QT e CH reticuladas e não reticuladas.....	83
Figura 30 - Intumescimento sequenciado das esferas de QT/CHR em pH 1,2 e 7,4.....	84
Figura 31 - Liberação sequenciada de cloroquina para esferas de QT/CHR..	85
Figura 32 - Liberação de cloroquina em pH 7,4 para esferas de QT/CHR.....	86
Figura 33 - Avaliação do comportamento difusional da liberação de cloroquina em pH 1,2 e pH 7,4.....	87
Figura 34 - Espectro de infravermelho da goma do chichá, quitosana e complexo polieletrólítico de CHQTa.....	89
Figura 35 - Potencial zeta x razão de carga (n^+/n^-) de partículas de CHQTb, QTbCH, CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL.....	91

Figura 36 - Potencial zeta x razão de carga (n^+/n^-) de partículas de CHQTb, QTbCH, CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-4} g/mL.....	91
Figura 37 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e CHQTa de concentração 10^{-3} g/ml.....	93
Figura 38 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTbCH e QTaCH de concentração 10^{-3} g/ml.....	94
Figura 39 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTbCH e QTaCH de concentração 10^{-4} g/ml.....	94
Figura 40 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e CHQTa de concentração 10^{-4} g/ml.....	95
Figura 41 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e QTbCH de concentração 10^{-3} g/mL.....	97
Figura 42 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL.....	98
Figura 43 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-4} g/ml.....	98
Figura 44 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e QTbCH de concentração 10^{-4} g/ml.....	99
Figura 45 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTa de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL.....	100
Figura 46 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTaCH de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL.....	100
Figura 47 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL.....	101
Figura 48 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTbCH de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL.....	101
Figura 49 - Estudo da estabilidade dos complexos de CHQTa 10^{-4} g/mL de razão n^+/n^- (a) 20, 10, 8, 4 e (b) 2, 0,7 e 0,5 e 0,1.....	104
Figura 50 - Estudo da estabilidade dos complexos de QTaCH 10^{-4} g/mL de razão n^+/n^- (a) 20, 15, 10, 8, 5 e (b) 2, 1, 0,5, 0,3 e 0,1.....	105
Figura 51 - Estudo da estabilidade dos complexos de CHQTb 10^{-4} g/mL em diferentes razões de carga.....	105
Figura 52 - Estudo da estabilidade dos complexos de QTbCH 10^{-4} g/mL em	

	diferentes razões de carga.....	106
Figura 53 -	Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTb e QTbCH para concentração de 10^{-3} g/mL.....	107
Figura 54 -	- Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTa e QTaCH para concentração de 10^{-3} g/mL.....	108
Figura 55 -	Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTa e QTaCH para concentração de 10^{-4} g/mL.....	108
Figura 56 -	Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTb e QTbCH para concentração de 10^{-4} g/mL.....	109
Figura 57 -	Liberação de cloroquina a partir de nanopartículas de QTaCH 5, CHQTa 5, QTaCH 0,1 e CHQTa 0,1. (a) tempo nas primeiras 55 horas e (b) tempo em dias.....	112
Figura 58 -	Liberação de cloroquina a partir de nanopartículas de QTbCH 5, CHQTb 5, QTbCH 0,1 e CHQTb 0,1. (a) tempo nas primeiras 55 horas e (b) tempo em dias.....	113
Figura 59 -	Liberação de cloroquina a partir de nanopartículas de QTbCH 5, CHQTb 5, QTbCH 0,1 e CHQTb 0,1.....	114
Figura 60 -	Espectro na região do infravermelho do CH, CHox1 e CHox2.....	116
Figura 61 -	Curva de TGA para a CH e CHox1 em atmosfera de ar sintético.....	117
Figura 62 -	- Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde QT é adicionada a CHox1.....	121
Figura 63 -	Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde CHox1 é adicionada a QT.....	122
Figura 64 -	Estudo da estabilidade das nanopartículas formada por QTaCHox1 em diferentes razões massa.....	123
Figura 65 -	Estudo da estabilidade das nanopartículas formada por CHox1QTa em diferentes razões massa.....	124
Figura 66 -	Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde QT é adicionada a CHox2	127
Figura 67 -	Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde CHox2 é adicionada a QT.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Sistemas de quitosana para liberação de fármaco preparados por diferentes métodos.....	22
Tabela 2 -	Microesferas de quitosana e polissacarídeos aniônicos obtidas por complexação polieletrólítica aplicados na liberação controlada de fármaco.....	26
Tabela 3 -	Efeito do tamanho da nanopartícula nas propriedades do sistema carreador de fármaco.....	28
Tabela 4 -	Concentrações mínimas recomendadas para análise de tamanho de partícula.....	33
Tabela 5 -	Nanopartículas de quitosana preparadas via complexação polieletrólítica.....	40
Tabela 6 -	Valores de parâmetro de rigidez (B) para alguns polissacarídeos	57
Tabela 7 -	Dados epidemiológicos de malária, por estado. Amazônia Legal, janeiro a maio de 2009 e 2010.....	59
Tabela 8 -	Classificação de antimaláricos de acordo com sua categoria química e mecanismo de ação.....	60
Tabela 9 -	Fármacos antimaláricos: vantagens e desvantagens de seu uso clínico.....	61
Tabela 10 -	Alguns mecanismos que acionam a liberação de fármacos no organismo.....	64
Tabela 11 -	Nanopartículas de QT e CH obtidas via complexação polieletrólíticas.....	75
Tabela 12 -	Dados experimentais da reação de oxidação da goma do chichá	76
Tabela 13 -	Nanopartículas de QT e CHox.....	77
Tabela 14 -	Atribuições de algumas bandas na região do infravermelho dos polissacarídeos e do complexo.....	81
Tabela 15 -	Coeficiente de Difusão (cm^2/s) em pH 1,2 e pH 7,4.....	84
Tabela 16 -	Razão de carga (n^+/n^-) e tamanho de partícula de CHQTb, CHQTbV, QTbCH e QTbCHV.....	103
Tabela 17 -	Razão de carga (n^+/n^-) e tamanho de partícula de CHQTa, CHQTaV, QTaCH e QTaCHV.....	103
Tabela 18 -	Eficiência de incorporação.....	110

Tabela 19 - Tamanho de partícula sem e com cloroquina.....	111
Tabela 20 - Valores dos expoentes de difusão (n).....	114
Tabela 21 - Massas molares do chichá e dos derivados oxidados.....	117
Tabela 22 - Parâmetros obtidos do TGA para a GC e derivado oxidado em atmosfera de ar sintético.....	118
Tabela 23 - Potencial Zeta das amostras de QTbCHox, QTaCHox, CHoxQTb e CHoxQTa.....	119
Tabela 24 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTa e CHox1.....	120
Tabela 25 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTb e CHox1.....	120
Tabela 26 - Porcentagem do aumento de tamanho para amostras de QTa e CHox1 em 30 dias.....	124
Tabela 27 - Potencial Zeta das amostras de QTaCHox2 e CHox2QTa.....	125
Tabela 28 - Potencial Zeta das amostras de QTbCHox2 e CHox2QTb.....	125
Tabela 29 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTa e CHox2.....	126
Tabela 30 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTb e CHox2.....	126

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
1.1	Micropartículas a base de polissacarídeos.....	23
1.2	Nanopartículas.....	27
1.3	Caracterização por tamanho de partícula.....	29
1.4	Potencial zeta.....	34
1.5	Preparação de nanopartículas.....	37
1.5.1	<i>Complexação polieletrolítica.....</i>	37
1.5.2	<i>Formação de base de Schiff.....</i>	43
1.5.3	<i>Reticulação Iônica e Covalente.....</i>	47
1.5.4	<i>Nanoprecipitação.....</i>	50
1.5.5	<i>Autoformação ou autoagregação.....</i>	51
1.5.6	<i>Copolimerização por enxertia.....</i>	52
1.6	Goma do Chichá.....	54
1.7	Malária.....	58
1.8	Liberção de Fármaco.....	63
2	OBJETIVOS	70
3	METODOLOGIA.....	71
3.1	Materiais.....	71
3.2	Microesferas Quitosana/ Chichá (QTa/CH).....	71
3.2.1	<i>Preparação das microesferas de Quitosana/Chichá.....</i>	71
3.2.2	<i>Determinação da quantidade de goma incorporada nas microesferas.....</i>	71
3.2.3	<i>Reticulação das microesferas com glutaraldeído.....</i>	72
3.2.4	<i>Cinética de Intumescimento.....</i>	72
3.2.5	<i>Coeficiente de Difusão.....</i>	72
3.2.6	<i>Incorporação da Cloroquina às Microesferas de Quitosana/Goma do Chichá.....</i>	73
3.2.7	<i>Determinação da Quantidade de Cloroquina Incorporada.....</i>	73
3.2.8	<i>Ensaio de liberação de Cloroquina.....</i>	73
3.2.9	<i>Mecanismo da liberação do fármaco a partir da matriz polimérica.....</i>	73
3.2.10	<i>Microscopia Óptica.....</i>	74
3.3	Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá.....	74
3.3.1	<i>Preparação das nanopartículas por complexação polieletrolítica.....</i>	74

3.3.2	<i>Incorporação e Liberação de Cloroquina.....</i>	75
3.4	Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá Oxidada.....	76
3.4.1	<i>Oxidação da Goma do Chichá</i>	76
3.4.2	<i>Preparação das nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá Oxidada.....</i>	77
3.5	Métodos de Caracterização	78
3.5.1	<i>Tamanho de partícula.....</i>	78
3.5.2	<i>Estabilidade das partículas em solução.....</i>	78
3.5.3	<i>Espectroscopia de Infravermelho.....</i>	78
3.5.4	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....</i>	78
3.5.5	<i>Análise Termogravimétrica.....</i>	78
3.5.6	<i>Cromatografia de Permeação em Gel.....</i>	79
3.5.7	Análise Estatística.....	79
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
4.1	Microesferas de Quitosana e Goma do Chichá.....	80
4.1.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....</i>	80
4.1.2	<i>Ensaio de Intumescimento.....</i>	82
4.1.3	<i>Ensaio de Liberação.....</i>	85
4.2	Formação de Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá por Complexação Polieletrólítica.....	88
4.2.1	<i>Infravermelho.....</i>	89
4.2.2	<i>Potencial zeta.....</i>	90
4.2.3	<i>Avaliação dos parâmetros que influenciam o tamanho das partículas de goma do chichá e quitosana.....</i>	92
4.2.3.1	<i>Influência da massa molar da quitosana no tamanho das partículas....</i>	92
4.2.3.2	<i>Ordem de adição dos polieletrólitos.....</i>	97
4.2.3.3	<i>Influência da concentração dos polieletrólitos.....</i>	99
4.2.3.4	<i>Efeito do Volume no Tamanho das Nanopartículas.....</i>	102
4.2.4	<i>Estabilidade das nanopartículas.....</i>	104
4.2.5	Índice de polidispersividade.....	107
4.2.6	Liberação de Cloroquina.....	109
4.3	<i>Formação de Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá Oxidada Via Formação da Base de Schiff</i>	105

4.3.1	<i>Goma do Chichá Oxidada</i>	105
4.3.2	<i>Nanopartículas de Quitosana e Chichá Oxidado (CHox1)</i>	108
4.3.2.1	<i>Potencial Zeta</i>	108
4.3.2.2	<i>Ordem de Adição</i>	120
4.3.2.3	<i>Influência da massa molar da quitosana no tamanho das nanopartículas</i>	121
4.3.2.4	<i>Estabilidade em Solução</i>	123
4.3.3	<i>Nanopartículas de Quitosana e Chichá Oxidado (CHox2)</i>	124
4.3.3.1	<i>Potencial Zeta</i>	124
4.3.3.2	<i>Ordem de Adição</i>	125
4.3.2.3	<i>Influência da massa molar da quitosana no tamanho das nanopartículas</i>	126
5	CONCLUSÃO.....	128
	REFERÊNCIAS.....	130

1 INTRODUÇÃO

A aplicação de materiais poliméricos nos diversos campos da ciência como engenharia de tecidos (BI e col., 2011, COIMBRA e col., 2011), implantes de dispositivos médicos como próteses (STASIAK e col., 2011; DESIMONE e WILLIAMS, 2011), proporcionou o desenvolvimento de matrizes poliméricas biocompatíveis e biodegradáveis, isto é, degradadas *in vivo* em fragmentos menores que podem ser excretados pelo corpo (AZEVEDO, 2002).

Os polímeros empregados nessas preparações são macromoléculas biodegradáveis que apresentam várias unidades monoméricas iguais (homopolímeros) ou diferentes entre si (copolímeros), podendo ser iônicos (polieletrólitos) ou não iônicos (neutros).

Um sistema polimérico de liberação de fármaco pode ser planejado e desenvolvido por vários métodos de processamento. Modificando as propriedades do polímero, um sistema de matriz pode ser elaborado para uma liberação sustentada ou controlada do fármaco. Materiais poliméricos farmacêuticos com pequena ou nenhuma toxicidade podem ser utilizados como membranas ou matrizes nas quais o ingrediente ativo é disperso ou dissolvido.

Polímeros também funcionam como veículos e podem ser adicionados aos ingredientes ativos. Esses carreadores podem ser usados para liberar uma grande variedade de fármacos em uma taxa controlada no trato gastrointestinal (ZHU, 2002). Devido às suas diversas aplicações e funcionalidades, especialmente em terapias de liberação controlada do fármaco, os polímeros estão dentre os excipientes mais utilizados para a obtenção de formas farmacêuticas (RIOS, 2005).

Alguns fármacos que apresentam baixa biodisponibilidade, ou quando a substância ativa tem um efeito colateral de irritação local podem ter esses problemas solucionados quando preparados em formulações multiparticuladas com matriz polimérica que proporciona uma liberação controlada (PALMIERI e col., 2002; SJOBLOM, 2004).

Além da função, ou objetivos da formulação e das características do princípio ativo, as propriedades físico-químicas do polímero são fatores de suma importância que determinam sua utilização (PILLAI e PANCHAGNULA, 2001; RIOS, 2005). Essas propriedades são dependentes da natureza química dos monômeros,

do processo e da técnica de preparação do polímero, da massa molecular, que depende das condições de polimerização para cada monômero, e da estrutura macromolecular (MANO e MENDES, 1999).

As propriedades físicas dos polímeros estão relacionadas à resistência das ligações covalentes, à rigidez dos segmentos na cadeia polimérica e à resistência das forças intermoleculares (MANO e MENDES, 1999). Devido à diversidade inerente das estruturas e exigência do completo entendimento da superfície e propriedades do polímero que podem fornecer as funções químicas, interfacial, mecânica e biológica desejada, a seleção e *design* de um polímero se tornam uma tarefa bastante desafiadora (PILLAI e PANCHAGNULA, 2001). Atualmente diversos polímeros são utilizados em matrizes para liberação de fármaco.

Polímeros sintéticos: Os polímeros sintéticos fazem parte do nosso cotidiano e representam uma das classes de materiais mais versáteis que existem, apresentando inúmeras aplicações, entre as quais, no setor farmacêutico (LANGER e PEPPAS, 2003; ORÉFICE e col., 2006; LIU e col., 2009; SWARBRICK, 2007). Exemplos de polímeros sintéticos são: PEG, PVA, PAA, poli(ácido metacrílico) (PMAA), poli(acrilato de butila) (PBA), poli(metacrilato de metila) (PMMA), poli(N-isopropil acrilamida), PVP, poli(fosfazona), PLA, PCL, poli(metacrilato de 2-hidroxietila) (PHEMA) (LEE e YUK, 2007; OH, 2007; AHN, 2008; BAJPAI, 2008; HAMIDI e COL., 2008; KUCKLING e PARREK, 2008; XINMING, 2008)

Polímeros naturais. São biodegradáveis como, por exemplo, o alginato, a celulose e a quitosana e são muito utilizados como matrizes em liberação de fármacos. Um exemplo é a aplicação de quitosana enxertada com poli (ácido acrílico), formando um copolímero, na confecção de nanoesferas para se estudar a liberação controlada em função do tempo, utilizando-se eosina, um corante solúvel em água, como marcador (AZEVEDO, 2002).

Polímeros naturais modificados. Um problema encontrado em polímeros naturais é que eles podem ser degradados facilmente. Isto pode ser resolvido modificando o polímero com agentes reticulantes ou adicionando grupos hidrofóbicos. Exemplos destas modificações podem ser a reticulação de gelatina utilizando-se formaldeído, a

reticulação de quitosana utilizando-se glutaraldeído e transformação de celulose em acetato de celulose. Modificações enzimáticas também são utilizadas, como a modificação de quitosana por tirosinase (AZEVEDO, 2002).

Entre os polímeros naturais biodegradáveis mais utilizados na liberação de fármaco está a quitosana. Quitosana oferece várias vantagens para a formação de sistemas de liberação de fármaco, entre essas incluem a habilidade de controlar a liberação de agentes ativos e dispensa o uso de solventes orgânicos durante a síntese de partículas, devido a sua solubilidade em meio aquoso ácido (DASH e col., 2011), diferentes tipos de sistemas de quitosana para liberação de fármaco são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Sistemas de quitosana para liberação de fármaco preparados por diferentes métodos

Tipo de sistemas	Método de preparação
Tabletes	Matriz revestida
Capsulas	Capsulação
Microesferas	Emulsão por reticulação
	Coacervação/precipitação
	Spray-drying
	Gelificação Iônica
	Método de peneiração
Nanopartículas	Emulsão
	Coacervação/precipitação
	Coacervação/precipitação
Esferas	Coacervação/precipitação
Filmes	Moldagem de solução
Gel	Reticulação

Fonte: DASH e col., 2011.

Nos últimos 25 anos muitas pesquisas têm sido focalizadas na preparação de micro e nanopartículas de polímeros biodegradáveis para liberação controlada de fármacos. A administração do fármaco via tais sistemas é vantajosa porque as partículas podem ser ingeridas ou injetadas; podem ser adaptadas para o

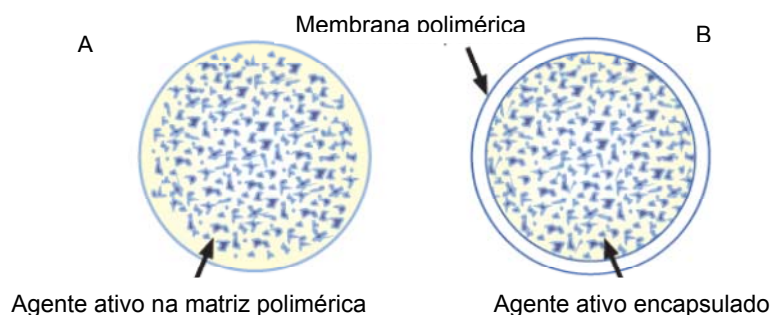
perfil de liberação desejado e em alguns casos podem até mesmo permitir a liberação em regiões específicas do organismo (FREIBERG e ZHU, 2004). A liberação controlada de fármaco tem sido testada *in vitro* a partir de micro e nanopartículas via complexação polieletrólítica e apresenta grande potencial para implantação de novos sistemas de liberação.

1.1 Micropartículas a base de polissacarídeos

A tecnologia associada à modificação da liberação de princípios ativos, como fármacos e pesticidas, corantes, aromatizantes etc., é vasta. Entre essas tecnologias, os sistemas matriciais poliméricos são amplamente aplicados na forma de micropartículas (SUAVE e col., 2006).

As micropartículas são subdivididas em microesferas e microcápsulas, segundo a sua estrutura. São denominadas microesferas as partículas compactas constituídas por uma rede polimérica na qual a substância ativa se encontra distribuída no seu estado sólido ou molecular. Já as microcápsulas são as partículas constituídas por um núcleo interno contendo o agente ativo recoberto por uma camada de polímero de espessura variável (BATYCKY e col.,1997; LINHARD, 1988). A figura 1 representa a estrutura de uma microesfera e de uma microcápsula.

Figura 1 - (A) microesfera – o agente ativo está distribuído em uma matriz polimérica; (B) microcápsula – o agente ativo está envolvido pelo agente encapsulante (polímero)



Fonte: Suave e col., 2006.

A grande variedade de princípios ativos e polímeros com diferentes propriedades exige a utilização de diferentes métodos de produção (FIGUEREIDO,

2011). A seleção de um método de produção tem de cumprir certos requisitos, tais como não afetar a estabilidade e atividade biológica do princípio ativo, a eficiência de encapsulação do princípio ativo no polímero tem de ser o mais elevada possível, os perfis de libertação do princípio ativo deverão estar de acordo com o pretendido e o método deverá ser exequível a nível industrial (BENITA, 2006).

O método de emulsificação consiste em dissolver o polímero em água e o fármaco pode ser dissolvido na solução do polímero. Posteriormente, é formada uma emulsão da solução do polímero e princípio ativo num solvente orgânico ou óleo, que não poderá ser miscível com o solvente do polímero e princípio ativo e no qual a solubilidade do polímero e o princípio ativo sejam baixos. A emulsão é estabilizada com a adição de um emulsificante. São então formadas duas fases: uma fase dispersa da solução do polímero e princípio ativo e uma fase contínua do solvente orgânico ou óleo. Depois as partículas formadas são removidas do solvente orgânico ou óleo da fase contínua sendo, posteriormente, lavadas e liofilizadas (FIGUEREIDO, 2011).

Este método tem sido utilizado numa escala laboratorial. No entanto, a sua aplicação a nível industrial é muito complicada e cara. Este método de produção de micropartículas é vantajoso, na medida em que permite um controle dos tamanhos das micropartículas, através da velocidade de agitação do meio. Contudo, este método apresenta limitações como uma eficiência de encapsulação não muito elevada e a utilização de solventes tóxicos, que podem deixar resíduos nas micropartículas. (CHAURASIA e col., 2006; KHARE e col., 2009).

O “Spray Drying” é uma técnica bastante versátil, sendo amplamente utilizada nas indústrias farmacêutica, alimentar e biotecnológica e desde os anos 70 que esta técnica é utilizada para a produção de micropartículas para sistemas de libertação controlada de princípios ativos. (YEO e col., 2001)

O polímero é dissolvido num solvente próprio e o princípio ativo é disperso ou dissolvido na solução do polímero. A solução do polímero e princípio ativo são introduzidos por meio de uma bomba peristáltica numa câmara de secagem. Com a remoção do solvente, o polissacarídeo passa pelo atomizador e formam-se microesferas, sendo que estas precipitam no ciclone. Este processo tem sido bastante utilizado devido a vantagens como a facilidade de transposição para um plano industrial, rapidez de produção, obtenção de eficiências de encapsulação superiores às obtidas por outros métodos; e pode ser utilizado para uma grande

variedade de polímeros e de princípios ativos. É um processo cuja produção é efetuada num só passo e produz micropartículas com características semelhantes às obtidas por outros processos, relativamente à distribuição de tamanhos, morfologia e cinética de libertação (FIGUEREIDO, 2011).

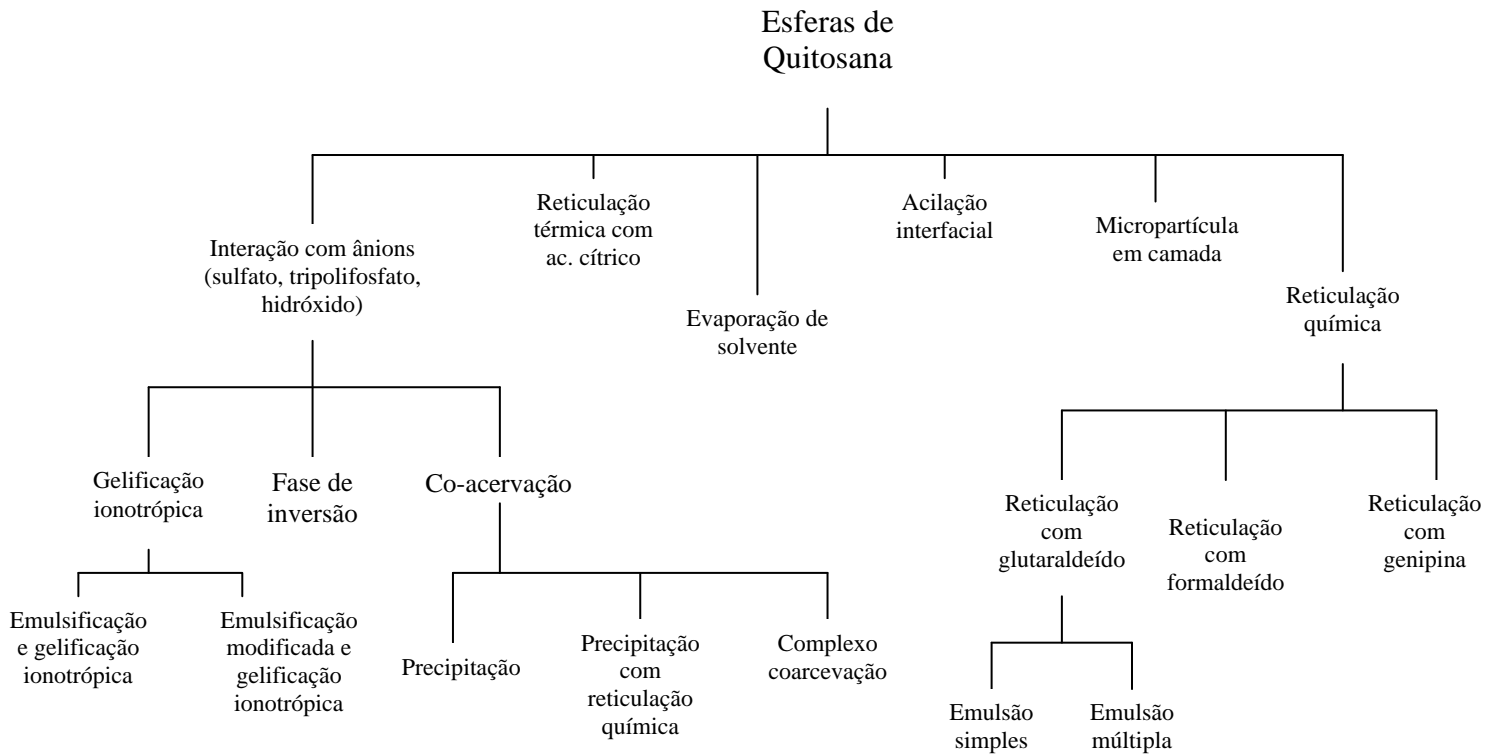
No entanto, apresenta os inconvenientes de haver uma grande percentagem de perdas, uma vez que as micropartículas se agregam bastante às paredes do ciclone, sendo bastante difícil recuperá-las; e de não se poderem processar soluções de elevada viscosidade (YEO e col., 2001; MANSOUR e col., 2010).

No método de precipitação a solução do polímero é introduzida, gota a gota, com uma seringa numa solução ou solvente, nos quais o polímero não seja solúvel. Como tal, formam-se esferas à saída da seringa (FIGUEREIDO, 2011).

Este método apresenta vantagens tais como reduzida complexidade e rapidez de execução. No entanto, também apresenta certas desvantagens, tais como ser um processo impraticável a nível industrial; poder fazer uso de solventes orgânicos prejudiciais à saúde, os quais podem estar presentes em quantidades residuais na formulação final; e no passo da trituração das macropartículas, algum do princípio ativo pode ser perdido (FIGUEREIDO, 2011).

Devido às suas características, quitosana e derivados vêm sendo bastante utilizados na preparação de micropartículas, inclusive associados a outros polímeros naturais, para a libertação de fármacos. Além dos três métodos referidos anteriormente, outros processos utilizados na preparação de esferas de quitosana são mostrados na Figura 2. Alguns sistemas de microesferas obtidas por complexação polieletrólítica e o fármaco liberado são mostrados na Tabela 2.

Figura 2 - Métodos para preparação de esferas de quitosana



Fonte: Adaptada de Sinha e col., 2004.

Tabela 2 - Microesferas de quitosana e polissacarídeos aniônicos obtidas por complexação polieletrólítica aplicados na liberação controlada de fármaco

Poliânions	Substância utilizada na liberação	Referência
Alginato	Insulina	Zhang e col., 2011a
	Lipídio	Li e MacClements, 2011
	Antioxidante polifenólico	Belščak-Cvitanović e col., 2011
	Carvedilol	Meng e col., 2011
	Matrine	Zang e col., 2011b
	Albedozol	Wang e col., 2011
Pectina	Resveratrol	Das e col., 2011
	Difenidramina	Bawa e col., 2011
Goma do Cajueiro	BSA	Magalhães e col., 2009
Celulose	5-Fluorouracil	Ganguly e col., 2011

1.2 Nanopartículas

A nanociência busca entender a razão para a mudança de comportamento dos materiais da escala macroscópica para escala nanométrica, os princípios das moléculas e estruturas. A nanotecnologia utiliza as novas propriedades que ocorrem na escala nanométrica para o desenvolvimento de produtos e dispositivos, com diferentes tipos de aplicações tecnológicas em dispositivos de dimensões nanométricas (SEREIA e col., 2011).

A nanotecnologia engloba o desenvolvimento de pesquisas e tecnologia com o objetivo de conhecer os fenômenos e os materiais em nanoescala e criar estruturas, mecanismos e sistemas que possuam novas propriedades e funções devido às suas dimensões pequenas.

Nos últimos anos a nanotecnologia tornou-se numa das áreas mais atrativas e por isso o aumento de sua importância no campo da Química, Física, Ciência dos Materiais e Engenharia. O prefixo nano é utilizado para estruturas nanodimensionadas (10^{-9} m), a nanotecnologia se baseia nos mais diversos tipos de materiais (polímeros, cerâmicas, metais, semi-condutores, compósitos e materiais) estruturados em escala nanométrica: nanopartículas, nanotubos e nanofibras, que por sua vez são formados por átomos ou moléculas (DURAN e col., 2006). Os materiais e sistemas nanoestruturados exibem propriedades e fenômenos físicos, químicos e/ou biológicos significativamente novos e modificados devido a sua escala nanométrica.

A nanotecnologia é atualmente usada em varias aplicações como em fibras e produtos têxtil (SON e col., 2011), na agricultura (NEETHIRAJAN e JAYAS, 2011), eletrônica (BHASKARAN e col., 2010), na área espacial (LIU e col., 2007) e terapia médica (CHOI e col., 2011, ROBSON e col., 2011; HUA e col., 2011). Nanopartículas biodegradáveis são frequentemente utilizadas como carreadores de fármacos.

Segundo Brannon-Peppas & Blanchete (2001), nanopartículas com elevado tempo de circulação e também com propriedades de atingir sítios pré-determinados devem possuir duas características importantes: a primeira é um tamanho em torno de 100 nm ou menor em diâmetro e a segunda é possuir uma superfície hidrofílica de modo a evitar sua eliminação via fagocitose. O efeito do

tamanho de partícula nas propriedades do sistema carreador de fármacos pode ser visto na Tabela 3.

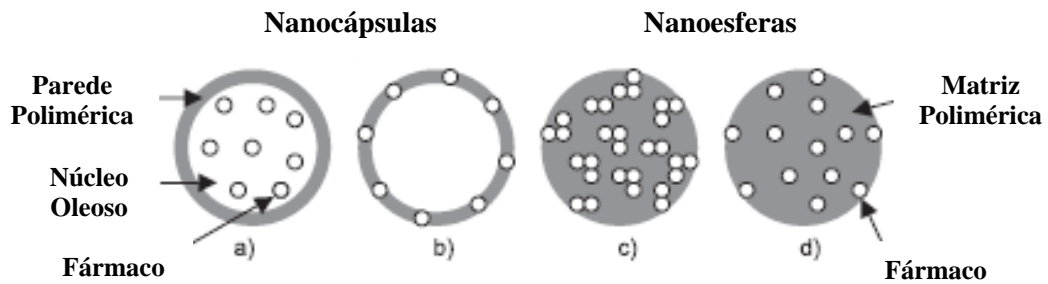
Tabela 3 - Efeito do tamanho da nanopartícula nas propriedades do sistema carreador de fármaco

Tamanho (nm)	Efeito
5-10	As partículas podem ser removidas rapidamente pelos rins.
10-70	As partículas não são removidas pelo sistema renal mas são pequenas o suficiente para penetrar em capilares muito pequenos
70-200	Nesta faixa as partículas possuem maior tempo de circulação
> 200	São usualmente removidas por fagocitose

Fonte: Vinogradov e col., 2002.

O termo “nanopartícula” inclui as nanocápsulas e as nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e a organização estrutural. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido a parede polimérica. Por outro lado, as nanoesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido (FIGURA 3) (SCHAFFAZICK e GUTERRES, 2003).

Figura 3 - Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido a parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas



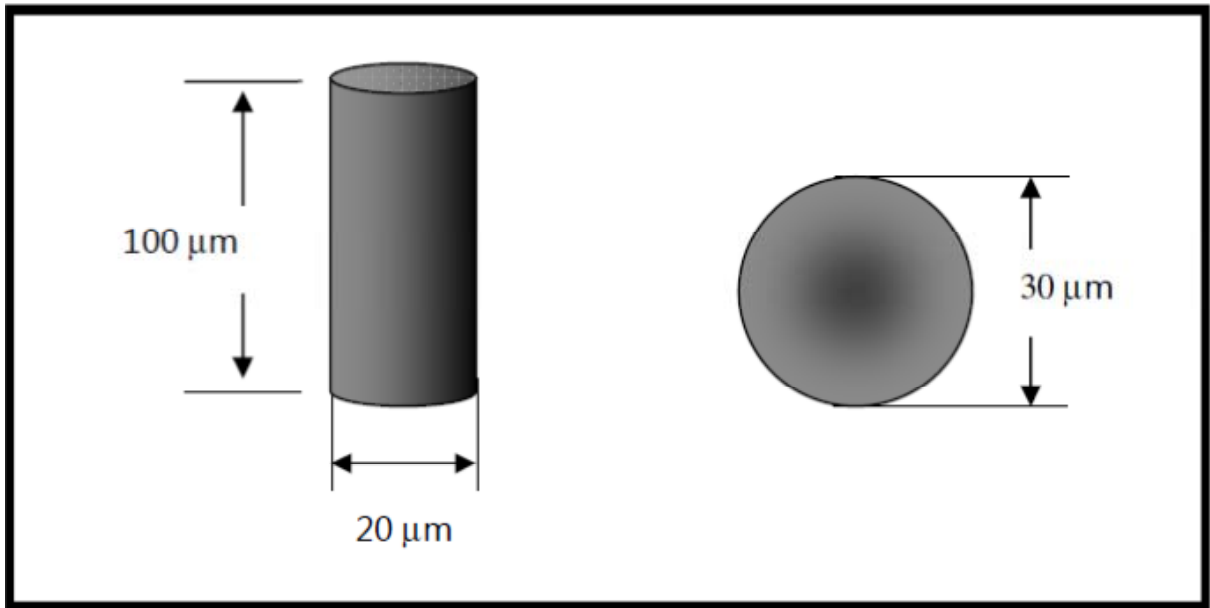
Fonte: Schaffazick e Guterres, 2003.

1.3 Caracterização por tamanho de partícula

O tamanho da partícula controla inúmeras propriedades importantes como propriedades óticas, viscosidade, velocidade de sedimentação, dentre outras. Imagine medir uma caixa usando uma régua. A resposta seria três números referentes a cada dimensão, porém cada um desses números representa somente um aspecto do tamanho da caixa.

A situação é mais difícil quando se quer medir uma forma parecida com a de um grão de areia, a dificuldade em calcular seu tamanho é óbvia. Há somente uma forma que se pode descrever por um único número que é a forma esférica. Se o peso da caixa for conhecido ele pode ser convertido em peso de uma esfera, permitindo que o cálculo de um único número chegue ao valor do diâmetro da esfera que corresponde ao mesmo peso da caixa (FIGURA 4) (RAWLW, 2002).

Figura 4 - Esfera equivalente de um cilindro de altura de $100\ \mu\text{m}$ e diâmetro de $20\ \mu\text{m}$

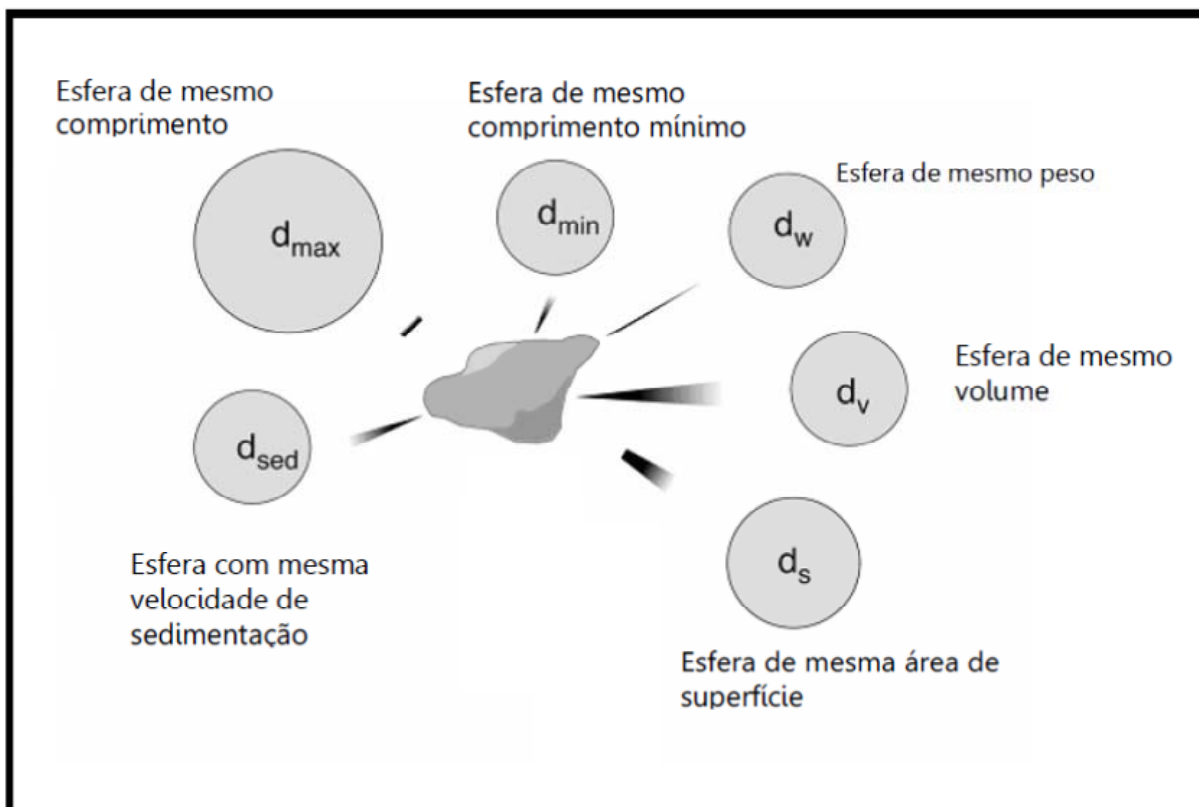


Fonte: Kendall, 1989.

Isto pode produzir alguns efeitos interessantes dependendo da forma do objeto, entretanto se o cilindro mudar de forma ou tamanho o seu volume e peso também mudarão, conseqüentemente o modelo da esfera equivalente se tornara maior ou menor (KENDALL, 1989).

Na determinação do tamanho de partículas há muitos diâmetros que se pode medir, como por exemplo, se o comprimento máximo da partícula é usado, a esfera terá um diâmetro máximo, se o comprimento mínimo ou outra quantidade for usada a esfera terá diâmetro diferente. É importante notar que cada técnica que caracteriza tamanho de partícula dará uma resposta diferente, isso vai depender de qual propriedade cada um usa (comprimento máximo ou mínimo, superfície de área, volume, dentre outros) (BECKERS e VERINGA, 1989; KENDALL, 1989, RAWLW, 2002). A Figura 5 mostra algumas diferentes respostas possíveis para um grão de areia.

Figura 5 - Diferentes medidas de tamanho de partícula para o mesmo grão de areia



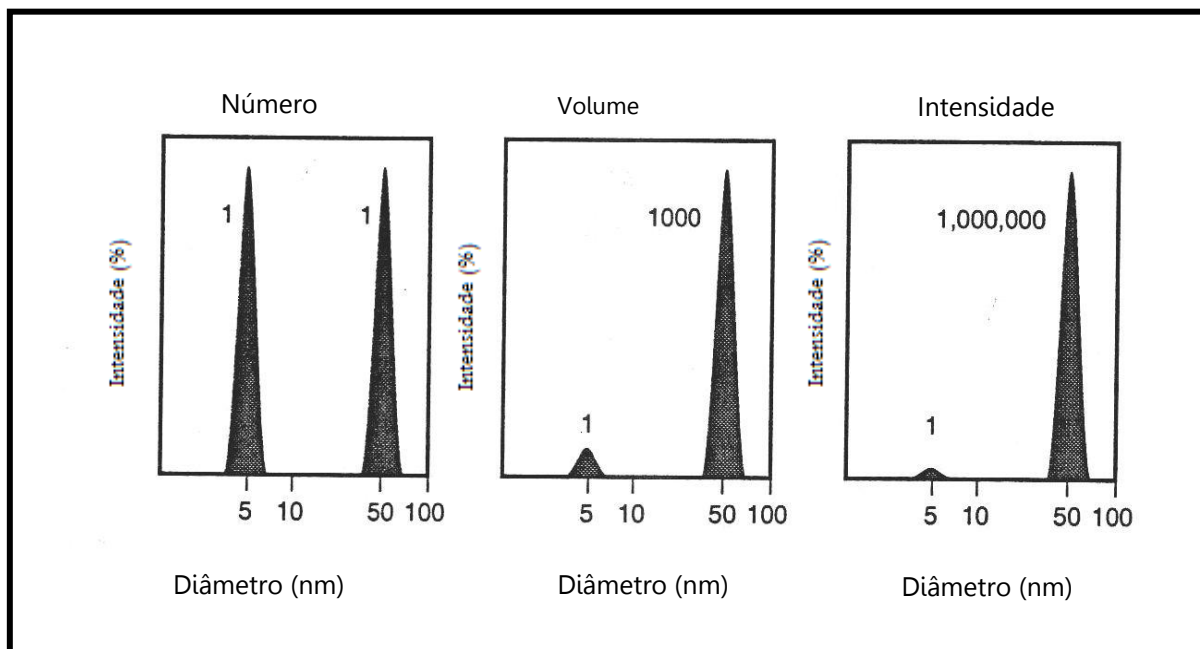
Fonte: Rawlw, 2002.

Na técnica por espalhamento dinâmico de luz realizada em equipamento zetasizer as partículas devem estar dispersas em um determinado solvente onde se movimentam aleatoriamente. Há basicamente dois modelos matemáticos que descrevem o espalhamento no equipamento zetasizer: quando as partículas são muito menores que $0,05 \mu\text{m}$, o espalhamento é denominado espalhamento de Rayleigh. Para partículas cujo tamanho está entre $0,05$ a $100 \mu\text{m}$ o espalhamento Mie é o mais apropriado, pois ele consegue descrever multiespalhamentos gerados durante a análise. Outro modelo matemático é o espalhamento de Fraunhofer, este é utilizado para partículas maiores que $100 \mu\text{m}$ (KECK e MULLER, 2008).

Matematicamente, o cálculo para conversão dos três tipos das análises de volume, número e intensidade tem pouca diferença, entretanto as consequências de cada conversão mostram resultados bem diferentes. Uma maneira simples de descrever a diferença entre intensidade, volume e número é considerar uma amostra que contém somente dois tamanhos de partícula (5 e 50 nm), mas com números iguais de cada tamanho de partícula. A Figura 6 mostra que o primeiro gráfico

representa o resultado em distribuição por número e como esperado, os dois picos são do mesmo tamanho (1:1) já que existe número igual de partículas.

Figura 6 - Gráficos da distribuição por número, volume e intensidade



Fonte: Zetasizer, 2005.

O segundo gráfico mostra o resultado de distribuição de volume. A área do pico para partículas de 50 nm é 1000 vezes maior do que o pico para partículas de 5 nm (razão de 1:1000). Isto é devido ao volume da partícula de 50 nm ser 1000 vezes maior que a partícula de 5 nm (volume da esfera é igual a $(4/3\pi r^3)$). O terceiro gráfico mostra o resultado de intensidade. A área do pico para partículas de 50 nm é agora 1.000.000 vezes maior do que para partículas de 5 nm (razão 1:1000000). Isto é devido às partículas grandes espalharem mais luz do que partículas pequenas (a intensidade do espalhamento da partícula é proporcional à sexta parte do seu diâmetro – aproximação de Rayleigh) (ZETASIZER, 2005).

A concentração é um parâmetro importante na hora de medir o tamanho de partícula. Se a concentração da amostra é muito baixa, o espalhamento de luz não é suficiente para realizar a medida. Isto não é comum ocorrer com o zetasizer, exceto em circunstâncias extremas. Se a amostra é muito concentrada, então o espalhamento de luz por uma partícula será espalhado por outra (isso é conhecido como multiespalhamento). A concentração máxima é também governada pelo ponto

no qual não é mais permitido que a amostra se difunda livremente (interações entre partículas) (ALLEN, 1992).

A Tabela 4 mostra a concentração máxima e mínima para diferentes tamanhos de partícula. Esses valores são aproximados para amostras com densidade próxima de 1 g/cm^3 , e onde as partículas têm uma diferença razoável no índice de refração para o dispersante.

Tabela 4 - Concentrações mínimas recomendadas para análise de tamanho de partícula

Tamanho de partícula	Concentração mínima Recomendada	Concentração máxima Recomendada
< 10 nm	0,5 g/L	Somente limitada pelo material da amostra: interação, agregação, gelificação, etc.
10 nm a 100 nm	0,1 g/L	5 % em massa
100 nm a 1 μm	0,01 g/L (10^{-3} % massa)	1 % em massa
> 1 μm	0,1 g/L (10^{-2} % massa)	1 % em massa

Fonte: Jillavenkatesa e col., 2001.

Todos os líquidos usados para a análise devem ser filtrados antes de serem utilizados para evitar contaminação da amostra. O tamanho do poro do filtro deve ser escolhido com cuidado, visto que se uma amostra é de 10 nm então uma partícula de poeira de 50 nm será um contaminante na dispersão. Dispersões aquosas podem ser filtradas em membranas de 0,2 μm . A contaminação por poeira é um fator que interfere, pois a quantidade de luz espalhada aumenta com a quantidade de poeira na dispersão (JILLAVENKATESA e col., 2001).

Alguns autores utilizam ultrassom para remover bolhas de ar ou destruir aglomerados. Entretanto isto deve ser aplicado cuidadosamente para que não haja dano as partículas originais formadas (TANG e LIM, 2003). Limites para o uso de

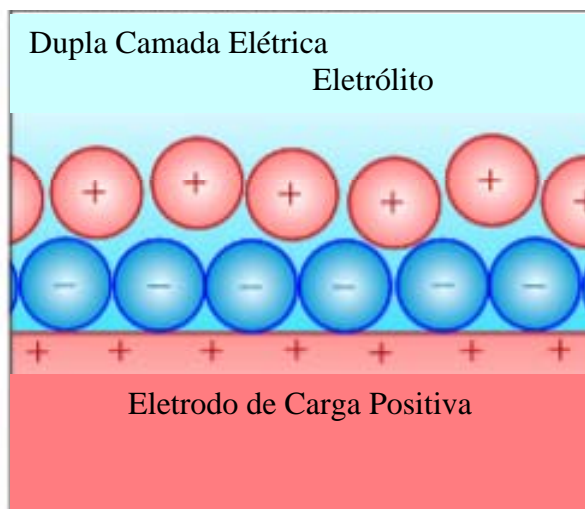
ultrasonicadores em termos de intensidade e tempo de aplicação são fortemente dependentes da amostra. Alguns materiais podem ser forçados a agregar com o uso do ultrassom, por exemplo, emulsões e lipossomas não devem ser sonicados (SMITH e col., 2009).

1.4 Potencial zeta

Muitas substâncias adquirem cargas elétricas na superfície quando postas em contacto com um líquido polar (água). As cargas das partículas dispersas em sistemas coloidais têm origem na formação de uma dupla camada de íons em sua superfície, devido a uma adsorção seletiva de um dos íons do eletrólito ou devido à ionização de suas moléculas superficiais (LIMA e col., 2008a, b).

A teoria da dupla camada elétrica, utilizada para explicar os fenômenos eletrocinéticos, supõe sistemas coloidais diluídos, com uma fase sólida suspensa em meio líquido. Esta consiste em uma camada de íons firmemente ligados a fase sólida dispersa (cargas fixas na superfície), chamados íons determinantes do potencial, e uma quantidade equivalente de íons carregados com carga oposta, os contra-íons, dispersos na fase fluida, próximos a interface, neutralizando esse excesso de cargas na superfície sólida (FIGURA 7). Os íons dispersos na fase fluida que possuam a mesma carga dos íons determinantes do potencial são chamados de co-íons. A carga da superfície influencia a distribuição dos íons em sua proximidade: os contra-íons são atraídos pela superfície e os co-íons são repelidos para longe (VOYUTSKY, 1978; LIMA e col., 2008c).

Figura 7 - Esquema da dupla camada elétrica

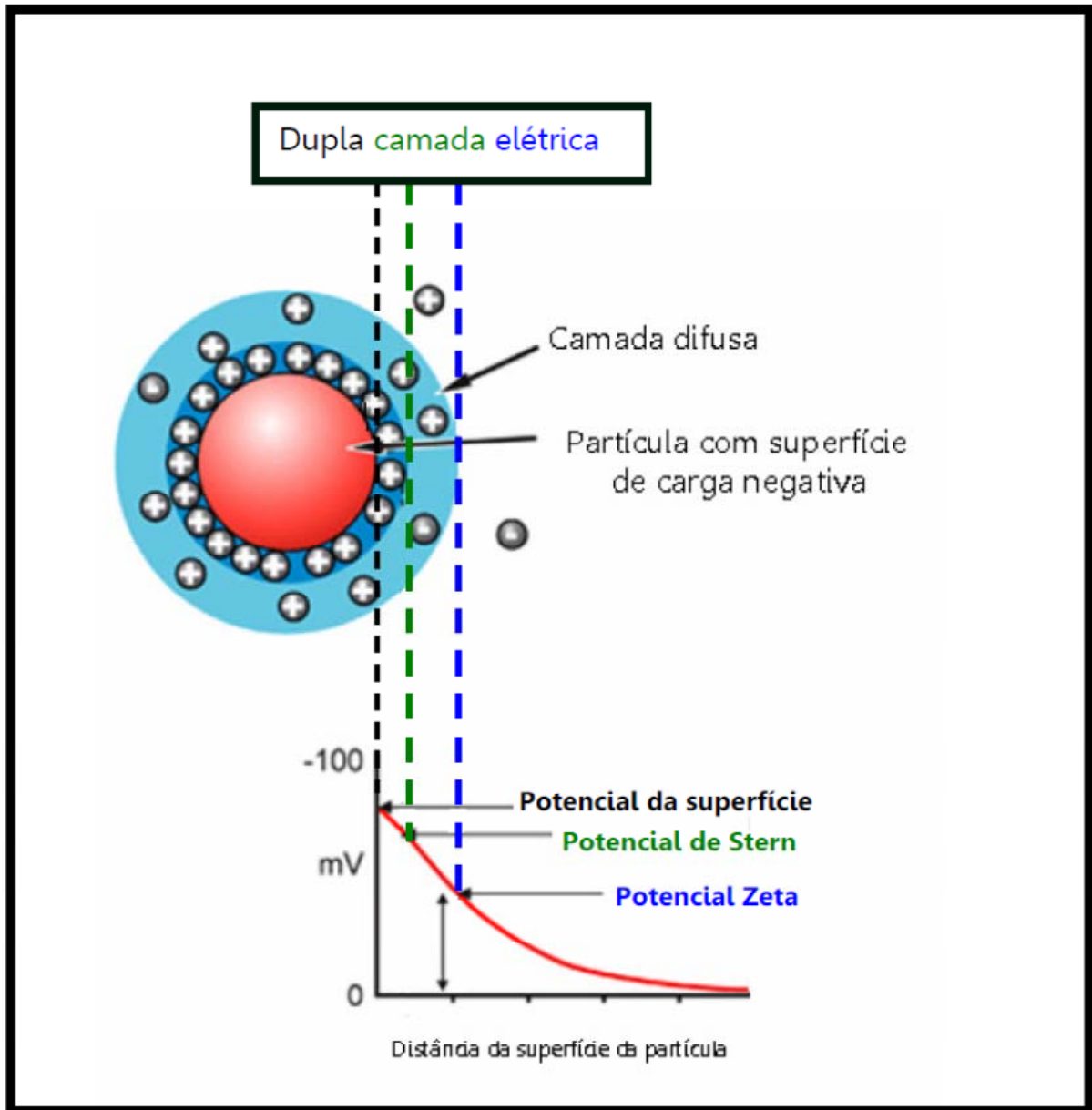


Dessa forma, o potencial nessa região decai com o aumento da distância da superfície até, uma distância suficientemente grande, atingir o potencial da solução. Esse potencial é convencionalmente chamado de potencial zero. Em um campo elétrico, cada partícula e os íons mais fortemente ligados a mesma se movem como uma unidade, e o potencial no plano de cisalhamento entre essa unidade e o meio circundante é chamado potencial Zeta (TECHNICAL NOTE, 2009b).

O potencial zeta é o potencial elétrico no plano hidrodinâmico de cisalhamento e depende não somente da superfície da partícula, mas do dispersante e pode ser afetado pelo pH ou força iônica do meio. A interação das partículas se dá pela magnitude do potencial zeta e não por sua carga de superfície, dessa forma, pode-se prever a estabilidade de suspensões coloidais.

Esse potencial pode ser determinado experimentalmente e, como ele reflete a carga efetiva nas partículas, ele se correlaciona com a repulsão eletrostática entre elas e com a estabilidade da suspensão. O potencial Zeta é um indicador útil dessa carga e pode ser usado para prever e controlar a estabilidade de suspensões ou emulsões coloidais (ZETASIZER, 2005). A Figura 8 mostra a representação da formação da dupla camada elétrica e do potencial Zeta para uma partícula carregada negativamente.

Figura 8 - Esquema de uma partícula coloidal, carregada eletricamente



Fonte: Zetasizer, 2005.

Quanto maior o potencial Zeta, mais provável é que a suspensão seja estável, pois as partículas carregadas se repelem umas as outras e essa força supera a tendência natural a agregação. A medida do potencial Zeta é com frequência a chave para compreender processos de dispersão e agregação em aplicações tão diversas quanto à purificação de água, moldes cerâmicos ou a formulação de tintas e cosméticos (TECHICAL NOTE, 2009a).

A estabilidade das nanopartículas em suspensão irá depender do balanço entre as forças repulsivas e atrativas existentes no meio. A magnitude da medida de

potencial Zeta é um indicativo da força repulsiva que está presente e pode ser usada para prever a estabilidade do material.

1.5 Preparação de nanopartículas

Diferentes métodos têm sido empregados para a preparação de nanopartículas à base de polissacarídeos para liberação de fármaco. A seguir são mostradas algumas dessas metodologias.

1.5.1 Complexação polieletrólítica

Complexos polieletrólíticos (CPE) são macromoléculas formadas pela interação iônica de um polímero catiônico e um aniônico. A sua formação ocorre sem a necessidade de moléculas catalisadoras ou inibidoras e ocorrem em soluções aquosas, o que é uma grande vantagem sobre as reações de reticulação covalente (BERGER e col., 2004).

A complexação eletrólítica é uma metodologia que é bastante utilizada na síntese de nanopartículas. Como não precisa de moléculas catalisadoras, inibidoras ou reticulantes é uma grande vantagem para o uso na liberação de fármaco. A formação de nanopartículas se dá pela mistura de soluções diluídas do polícatión e do poliânion. A quitosana é um dos polícatións mais utilizados na produção de nanopartículas via complexação polieletrólítica.

A pesquisa com quitina e quitosana avançou a partir da metade do século XIX. Desde então diversos trabalhos vêm sendo publicados com ambos os polissacarídeos nos quais aspectos físicos e químicos são bastante discutidos indicando que estas moléculas podem ser utilizadas em diversos tipos de aplicações tais como: na produção de microesferas para liberação controlada de fármaco incluindo vitamina E (YENILMEZ e col., 2011), albumina do soro bovina (BSA) (KARNCHANAJINDANUN e col., 2011), na síntese de biomateriais com aplicações como curativo (JAYAKUMAR e col., 2011) em aplicações médicas e farmacêuticas quitosana é usada como um componente em hidrogéis.

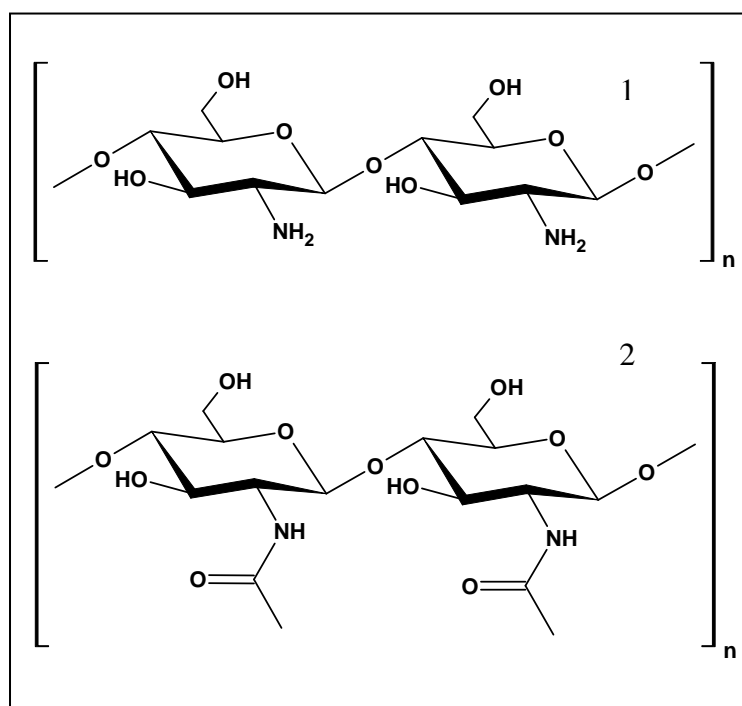
Quitosana é um copolímero de β -(1 \rightarrow 4)-2-acetoamido-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose. A quitosana é obtida

principalmente da desacetilação alcalina da quitina de exoesqueleto de crustáceos, tais como camarões e caranguejos (MUZZARELI, 1973). A quitosana, um biopolímero do tipo polissacarídeo, possui uma estrutura molecular quimicamente similar à fibra vegetal chamada celulose, diferenciando-se somente nos grupos funcionais.

As estruturas químicas da quitina e quitosana são bastante semelhantes sendo que o fator que faz a distinção entre as duas é o número de unidades acetiladas (FIGURA 9). Se a estrutura é mais de 80% acetilada, o polissacarídeo será denominado de quitina. Para cadeias com porcentagem de acetilação menor que 80%, a amostra é denominada de quitosana (ABRAN E HIGUEIRA, 2004).

A princípio, a hidrólise dos grupos acetamida da quitina pode ser alcançada em meio ácido ou alcalino, mas a primeira condição não é empregada devido à susceptibilidade das ligações glicosídicas à hidrólise ácida, mesmo quando realizada em meio alcalino, a desacetilação da quitina raramente é completa, pois quitosanas são obtidas quando a extensão da reação atinge cerca de 60% (ou mais) e o prolongamento da reação, que gera produtos mais completamente desacetilados, também provoca severa degradação das cadeias poliméricas (MATHUR, 1990).

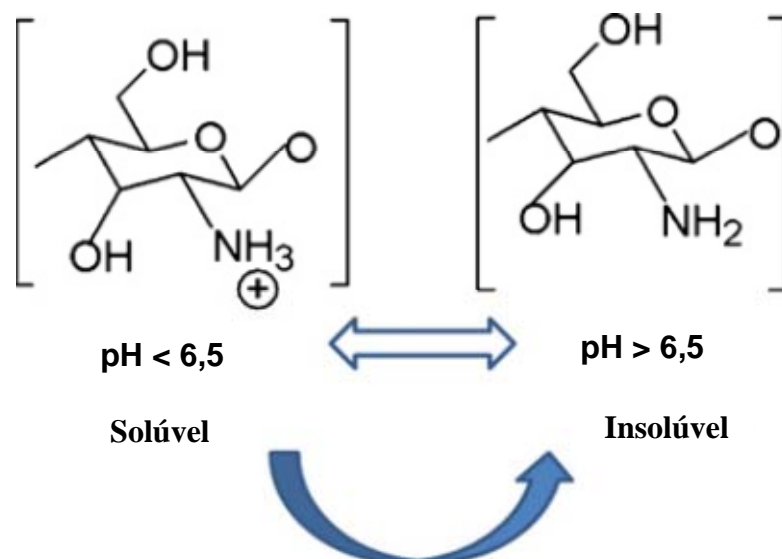
Figura 9 - Unidades repetitivas da quitosana totalmente desacetilada (1) e quitina totalmente acetilada (2)



A conformação em solução, as propriedades físico-químicas e biológicas da quitosana dependem de parâmetros como a massa molar, grau de desacetilação (GD) e distribuição dos tipos de unidades constituintes da cadeia (acetilglucosamina e glucosamina). A massa molar e o GD podem ser estabelecidos por condições escolhidas durante a etapa de obtenção da quitosana. No entanto, podem também ser modificados em outros estágios; o grau de desacetilação pode ser diminuído por reacetilação (SORLIER e col., 2001) e a massa molar pode ser reduzida por despolimerização ácida (DONG e col., 2001).

Os derivados obtidos por desacetilação da quitina são solúveis em meio ácido quando o grau de acetilação é menor que 60% (SORLIER e col., 2001). Em meio ácido os grupamentos amino livres da quitosana são protonados ($-\text{NH}_3^+$), o que a torna solúvel, que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais (GOOSEN, 1996). À medida que o pH se aproxima de 6,5 a tendência à precipitação aumenta devido ao número de grupamentos $-\text{NH}_2$ na estrutura (FIGURA 10).

Figura 10 - Ilustração esquemática da quitosana. Em pH baixo (abaixo de 6,0), grupos aminos da quitosana estão protonados, conferindo comportamento policatiônico a quitosana. Em pH acima de 6,5 as aminos da quitosana estão desprotonadas e reativas.



Fonte: Adaptada de Dash e col., 2011.

O grau de acetilação da quitosana pode ser determinado por condutimetria e potenciometria (RUSU-BALAITA e col., 2003), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) (LE DUNG e col., 1994; LAVERTU e col., 2003) e por espectroscopia na região do infravermelho (IV) (BRUGNEROTTO e col., 2001; MOORE e ROBERTS 1980).

Foi relatado que quitosana sequestra lipídios no intestino, devido a sua natureza catiônica e dependendo das condições do meio em que a quitosana se encontra e do seu grau de desacetilação (porcentagem de grupos amino presentes no biopolímero), ela pode adsorver (reter) de 4 a 5 vezes o seu peso em gordura (KANAUCHI e col., 1995; WUOLIJOKI e col., 1999).

Quitosana é um polímero catiônico que pode interagir com outros polímeros que possuem cargas negativas (poliânions) por esta razão é um dos polissacarídeos mais utilizados na formação de CPEs. Os polissacarídeos mais utilizados como polímeros aniônicos na formação de CPE de quitosana são aqueles que contêm grupos carboxilato e sulfato, como mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Nanopartículas de quitosana preparadas via complexação polietrolítica

Classe	Polieletrólitos	Grupo aniônico	Referência
Polissacarídeos	Sulfato de dextrana	$-\text{OSO}_3^-$	Anitha e col., 2011
	Pectina	$-\text{COO}^-$	Hu e col., 2011
	Alginato	$-\text{COO}^-$	Wang col., 2011
	Ácido hialurônico	$-\text{COO}^-$	Lu e col., 2011
	Goma Arábica	$-\text{COO}^-$	Avadi e col., 2011
Polímero sintético	Polietilenoglicol	$-\text{COO}^-$	Wu e col., 2006
	Polifosfato	$-\text{OPO}_3^-$	Pawar e col., 2011

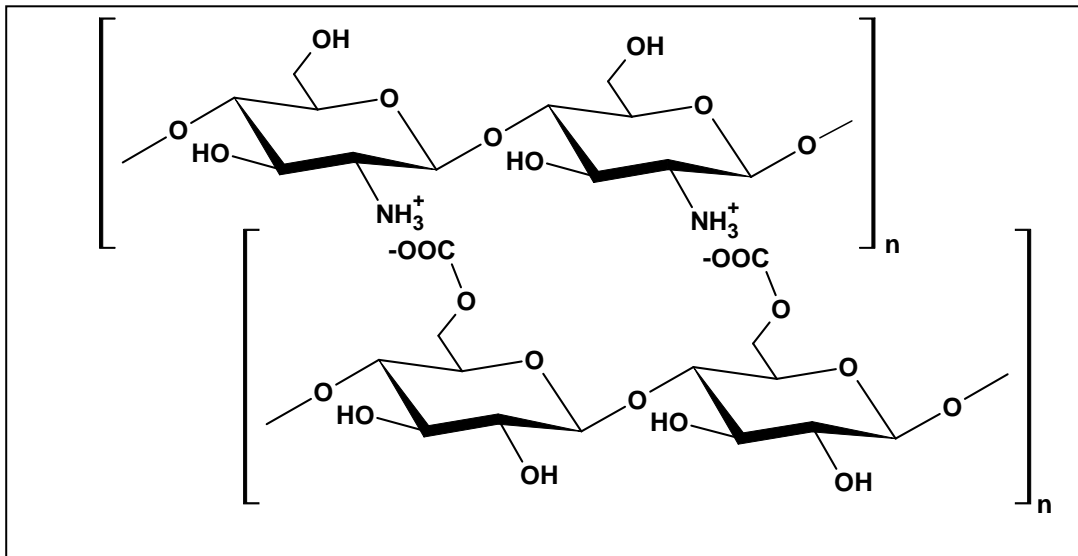
Os complexos de quitosana também exibem interessante capacidade de intumescimento (BERGER e col., 2004). Esses complexos possuem numerosas aplicações, tais como: em membranas, em sistemas para imobilização de enzimas, em sensores ambientais, e também na preparação de matrizes utilizadas em sistemas de liberação controlada de fármaco. Na complexação polieletrólítica a atração eletrostática entre os grupos catiônicos de um polycation, como a quitosana, e os grupos aniônicos de um poliânion é a principal interação que leva à formação do complexo (FIGURA 11).

O que leva a interação eletrostática entre as cadeias do polycation e do poliânion é a diminuição da energia livre de Gibbs (ΔG), a qual possui dois componentes:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (1)$$

- Componente entálpico (ΔH): grupos carregados negativamente do poliânion como COO^- de grupamento ácido, interagem eletrostaticamente com grupos NH_3^+ da quitosana, resultando em complexos polieletrólíticos. Este tipo de mecanismo para a formação de partículas de quitosana tem sido repetidamente relatados na literatura (TAVARES e col., 2012).
- Componente entrópico (ΔS): cada grupo NH_3^+ da quitosana possui uma atmosfera iônica ao redor dela que é rica contra-íons negativos monovalentes do ácido utilizado para protonar a quitosana. Esses contra-íons possuem mobilidade restrita, embora a pressão osmótica impulse parte desses contra-íons para fora da macromolécula. Quando ocorre a interação entre o NH_3^+ da quitosana e o COO^- do poliânion os contra-íons são liberados para a solução, ocasionando um aumento na entropia do sistema (GUCHT e col., 2011).

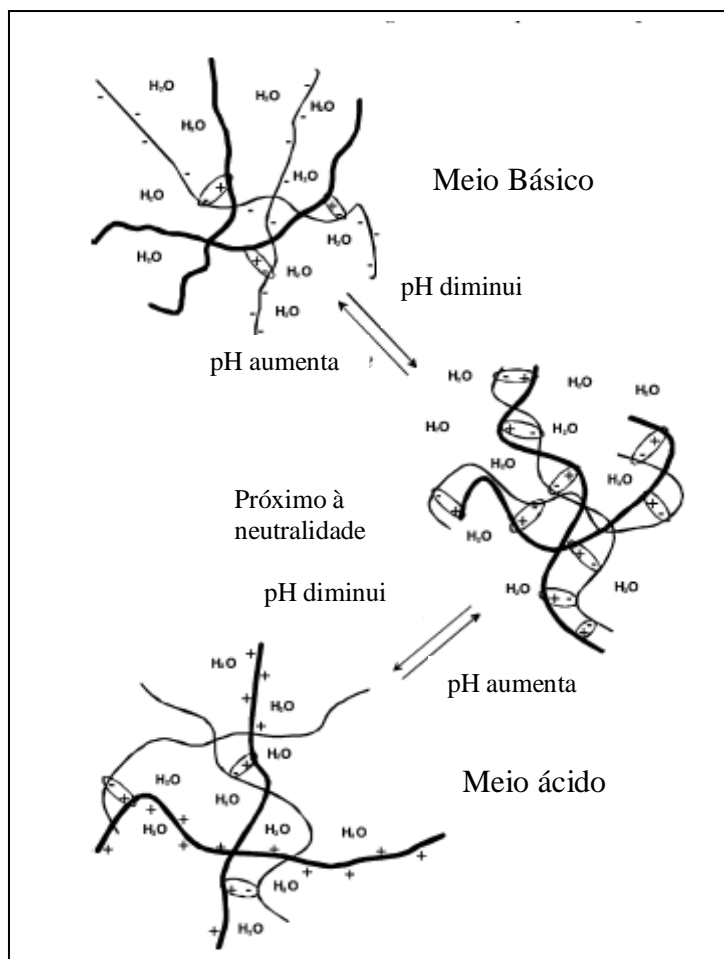
Figura 11 - Esquema da interação entre as cadeias de quitosana (polieletrólito catiônico) e um polieletrólito aniônico



CPEs podem ser usados para preparar sistemas de liberação de fármaco, o intumescimento e o perfil da liberação podem ser modulados por seleção apropriada das condições de preparação.

A Figura 12 mostra o efeito do pH nas cadeias dos CPE. Observa-se que em pH básico um maior número de cargas negativas devido à desprotonação de grupamentos iônicos do polieletrólito aniônico, enquanto que em pH ácido ocorre a protonação de grupamentos iônico do polieletrólito catiônico (quitosana). Assim, dependendo da estabilidade do polímero aniônico em meio ácido pode ocorrer dissolução do complexo devido à alta solubilidade de quitosana em meio ácido.

Figura 12 - Estrutura e intumescimento sensível ao pH do meio de um complexo contendo quitosana; carga negativa do outro polieletrólito: carga positiva da quitosana, +, interação iônica, ○ ; quitosana — ; polieletrólito adicional, —



Fonte: Adaptado de Berger e col., 2004.

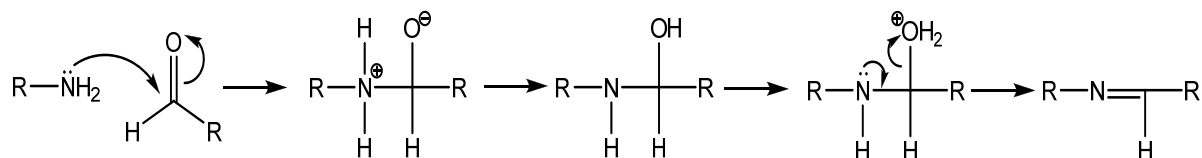
1.5.2 Formação de base de Schiff

As bases de *Schiff* são iminas provenientes da condensação de substâncias carbonílicas com aminas, sendo importantes intermediários envolvidos em diversas transformações enzimáticas (SOUSA e col., 2004). Esses compostos são bem conhecidos e são sintetizados pela condensação de um aldeído com uma amina apropriada sob várias condições reacionais.

Bases de Schiff derivadas de aminas aromáticas e aldeídos têm uma vasta variedade de aplicações em muitos campos como na área biológica, na

química inorgânica e analítica (IBRAHIM e SHARIF, 2007). A Figura 13 mostra a reação de formação de uma base de Schiff.

Figura 13 - Modelo de reação de formação de Base de Schiff

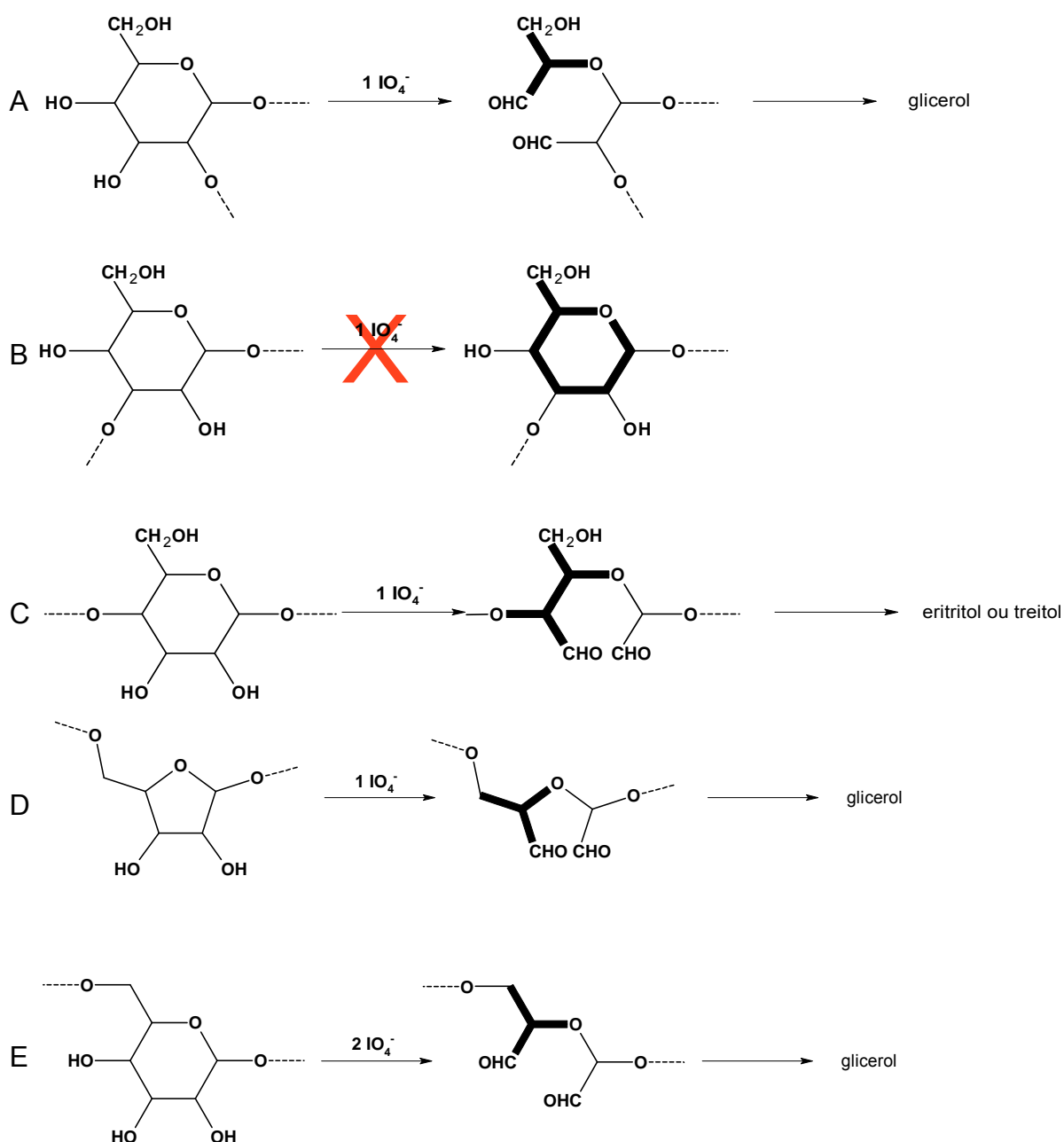


Atualmente muitos trabalhos têm sido publicados mostrando a síntese de nanopartículas a partir de reações de base de Schiff (LIU e col., 2005; TREE-UDOM e col., 2011; CHEN e col., 2009, YAO e col., 2011; SABOKTAKIN e col., 2011; CHEN e col., 2011; RAO e col., 2012). Polissacarídeos podem ser modificados para formação de bases de Schiff com quitosana a partir de reação de oxidação da cadeia do polissacarídeo levando a formação de aldeídos (MACIEL, 2005; MOURA NETO, 2008).

A oxidação com periodato de sódio é uma reação simples e bastante usada como ferramenta na elucidação estrutural de carboidratos complexos (PERLIN e CASU, 1982). A oxidação de amido com periodato é um dos exemplos no qual esta é empregada para obter novas propriedades com aplicações industriais (VEELAERT e col., 1997). No entanto, a modificação por oxidação com periodato foi proposta para outros polissacarídeos como: goma arábica (NISHI e JAYAKRISHNAN, 2007; NISHI e JAYAKRISHNAN, 2004) e goma Konjac (YU e XIAO, 2008).

Periodato oxida seletivamente as cadeias laterais do polissacarídeo, se a cadeia principal não possuir nenhuma hidroxila vicinal. Assim, quando na cadeia principal as unidades dos monossacarídeos são ligadas (1→3) a oxidação com periodato leva a introdução de grupamentos aldeídos nas cadeias laterais, sem degradação da cadeia principal. A Figura 14 mostra diferentes unidades de açúcares reagindo com periodato de sódio. Observa-se que a única unidade não oxidada é a B devido às ligações glicosídicas na posição 1 e 3 que não apresenta duas hidroxilas vicinais.

Figura 14 - Seletividade da reação de periodato de sódio com unidades de açúcar substituídas em diferentes posições



Fonte: Aspinall, 1982.

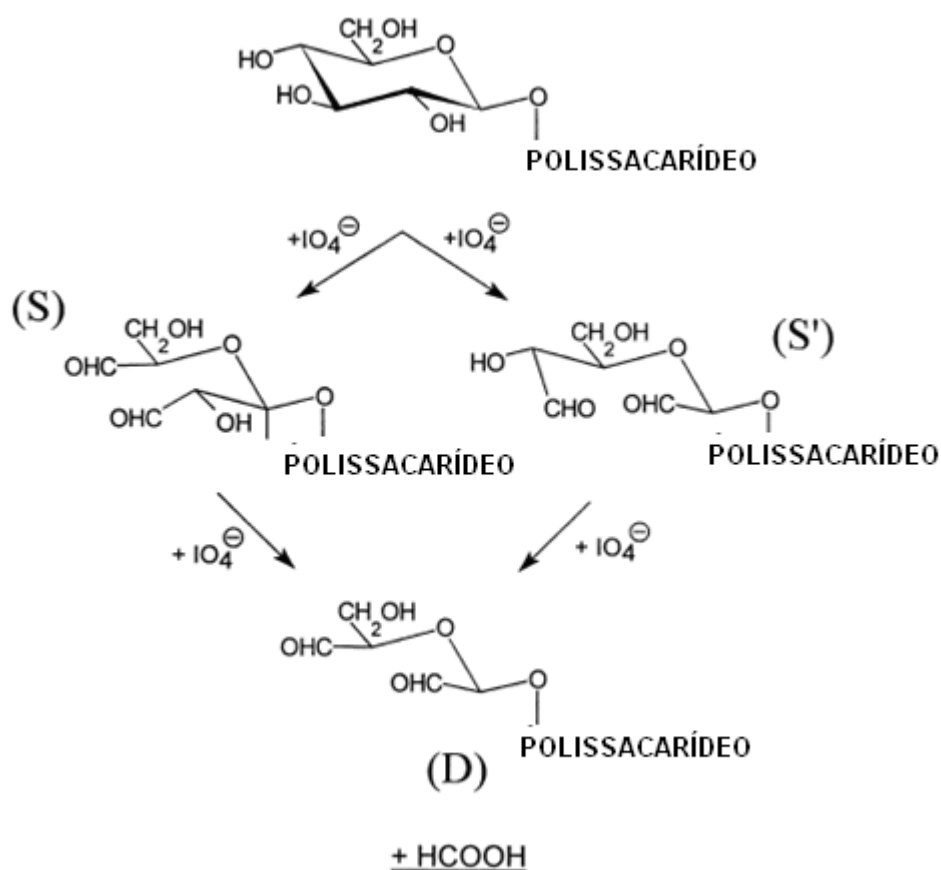
Polissacarídeos como a goma do cajueiro (PAULA e col., 1998) e escleroglucana (CHRISTENSEN e col., 2001) apresentam esse tipo de ligação em suas estruturas. A Figura 15 mostra o mecanismo básico da reação de oxidação de uma D-glucose de cadeia lateral (JACKSON e HUDSON, 1938). O mecanismo descrito assume que a ligação dos carbonos C(2) – C(3) e C(3) – C(4) do anel de

glucose pode ser acessada por oxidação com periodato (AALMO e PAINTER, 1981). A reação ocorre quando a ligação C(3) – C(4) ou C(2) – C(3) é quebrada na primeira oxidação, originando grupamentos aldeídos nos respectivos carbonos (unidades S e S'). Esses intermediários podem existir em solução nas formas cíclicas e de hemiacetal (AALMO E PAINTER, 1981). Uma segunda oxidação complementar origina novos grupamentos aldeído, formando a unidade D (duplamente oxidada) com consequente liberação de ácido fórmico de C(3).

A análise do consumo de periodato possibilita a determinação da proporção de unidades oxidadas. O controle da estequiometria periodato/polissacarídeo pode produzir materiais com diferentes graus de oxidação.

Os grupos aldeído das unidades oxidadas podem reagir com NaBH_4 para formar o correspondente poliálcool (SCHULZ e RAPP, 1991) ou com NaClO_2 para formar correspondentes policarboxilatos (CRESCENZI e col., 1983). O estudo de derivados aldeídos funcionalizados é interessante devido a sua reatividade com grupamentos amina de quitosana e proteínas, como por exemplo, a gelatina para a formação da imina ($-\text{C}=\text{N}-$) (MOURA NETO, 2008).

Figura 15 - Esquema da reação seletiva de oxidação de uma unidade de glucose da cadeia lateral de um polissacarídeo



Fonte: Maeda e col. 2001.

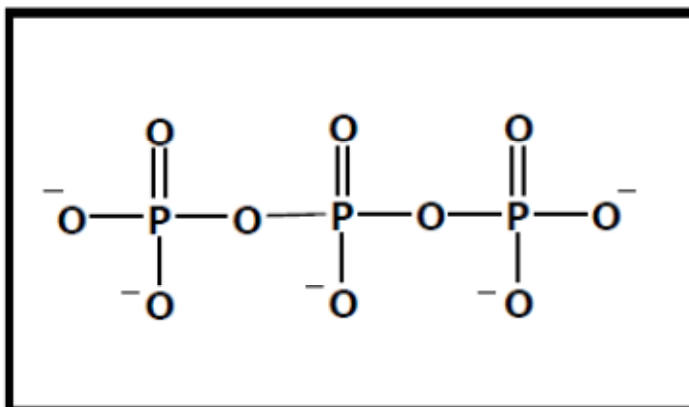
1.5.3 Reticulação Iônica e Covalente

A reticulação consiste na introdução de moléculas de baixa massa molar, chamadas de agentes de reticulação. Os grupos funcionais (-OH, -COOH e -NH₂) na estrutura dos polissacarídeos podem ser utilizados para a formação de ligações cruzadas com moléculas bifuncionais ou íons, os quais permitem a formação de pontes entre duas cadeias da macromolécula. Dependendo da natureza do agente de reticulação as principais interações na formação da cadeia são iônicas ou covalentes.

A reticulação iônica representa muitas vantagens, pois a reticulação ocorre em condições de preparação brandas e procedimentos simples. O poliânion mais utilizado como reticulante é o TPP (tripolifosfato). O TPP, como mostrado na Figura 16, não é tóxico e possui ânions multivalentes. Ele pode formar um gel por interação iônica entre cargas positivas dos grupos amino da quitosana e os de cargas negativas do TPP.

Fan e col. (2012) sintetizaram nanopartículas de quitosana reticuladas com tripolifosfato por gelificação iônica. As nanopartículas apresentaram um diâmetro hidrodinâmico de 138 nm com um índice de polidispersão (PDI) de 0,026 e um potencial zeta de 35 mV, as nanopartículas apresentaram boa estabilidade de armazenamento em temperatura ambiente até pelo menos 20 dias. Nanopartículas de quitosana reticuladas com tripolifosfato para liberação de fármaco foram produzidas com diâmetro em torno de 100 nm (MORRIS e col., 2011).

Figura 16 - Representação estrutural do tripolifosfato

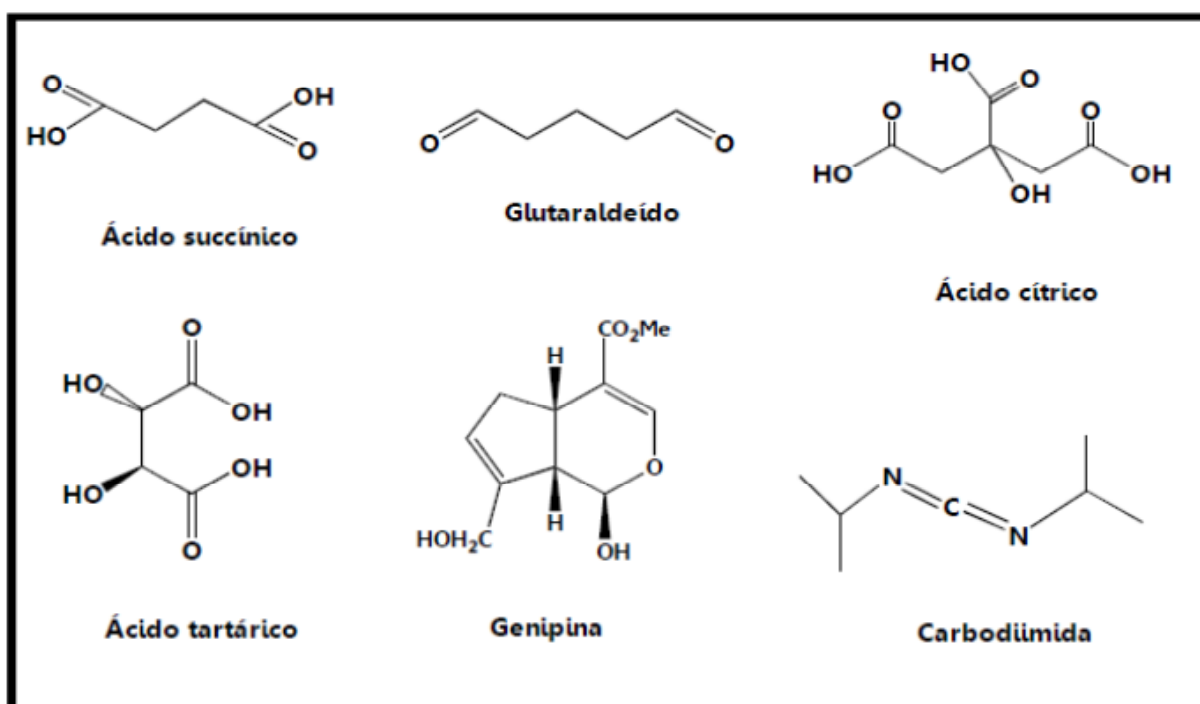


Os agentes reticulantes normalmente utilizados para reticulação covalente de polissacarídeo são a epiclorigrina, o glutaraldeído e o formaldeído. As propriedades de polímeros reticulados dependem principalmente da densidade de reticulação e da razão molar do agente reticulante para o número de unidades repetitivas. Os agentes reticulantes são usados para deixar a matriz polimérica estável durante mudanças de pH, melhorar suas propriedades mecânicas e também para aumentar o tempo de liberação de fármacos em carreadores.

Chen e col. (2011) sintetizaram nanopartículas de quitosana reticuladas com epiclorigrina, glutaraldeído e etilenoglicol. Essas nanopartículas reticuladas apresentaram média de diâmetro que varia de 170,2 a 210,6 nm e valores de

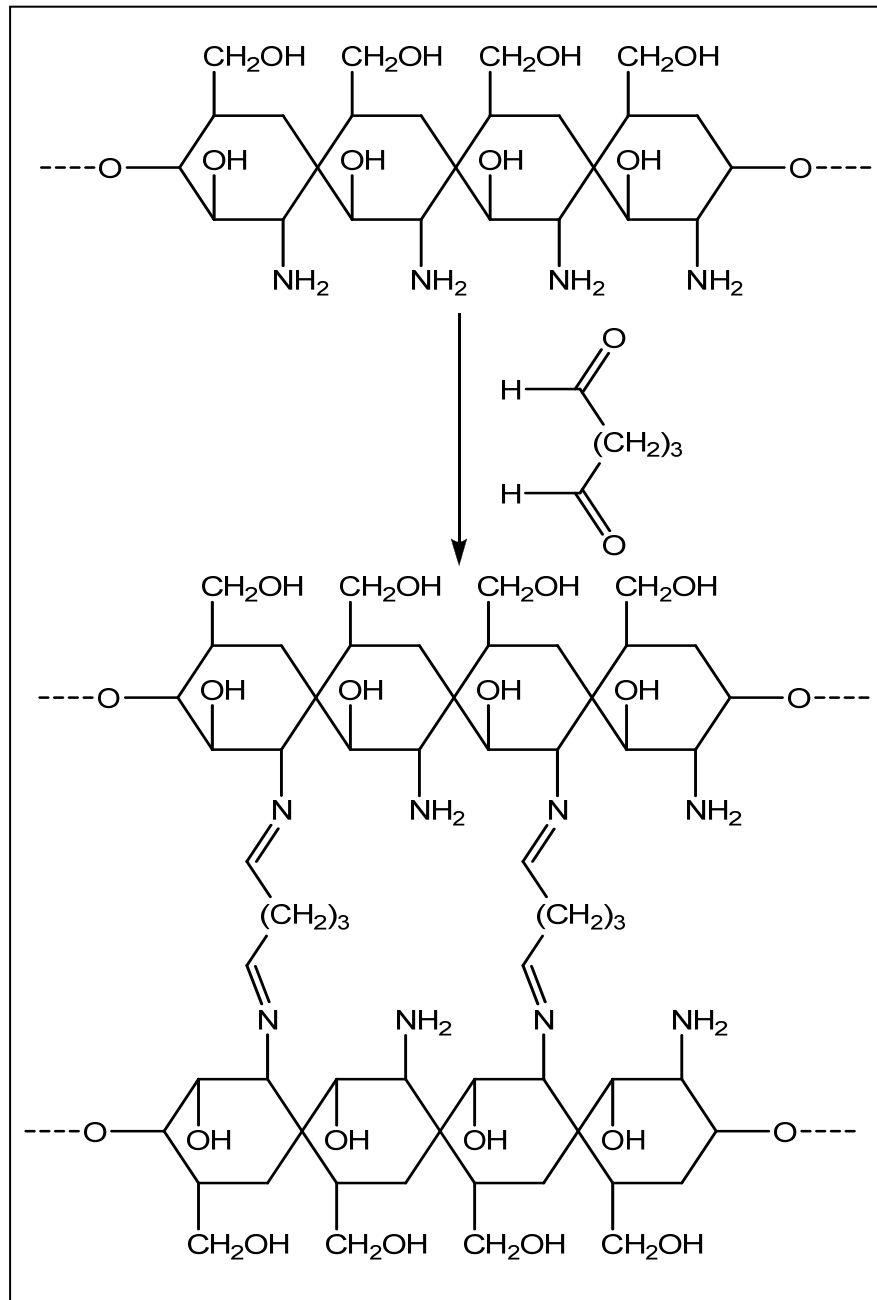
potencial zeta variando de 12,4 a 16,4 mV. Agentes de condensação de carbodiimida, ácido di e tricarboxílicos, incluindo ácido succínico, tartárico e cítrico são também usados para reticulação intermolecular de nanopartículas de quitosana (FIGURA 17) (BODNAR e col., 2005a,b).

Figura 17 - Representações estruturais da molécula de glutaraldeído e demais agentes reticulantes



Ao se empregarem aldeídos monofuncionais (formaldeído) ou bifuncionais (glioal e glutaraldeído) como agentes de entrecruzamento, a reticulação ocorre via adição nucleofílica da amina da quitosana à carbonila dos agentes. A reação de eliminação subsequente produz as correspondentes aldiminas ou bases de Schiff (GONSALVES e col., 2011) (FIGURA 18).

Figura 18 - Processo de reticulação da quitosana com glutaraldeído



1.5.4 Nanoprecipitação

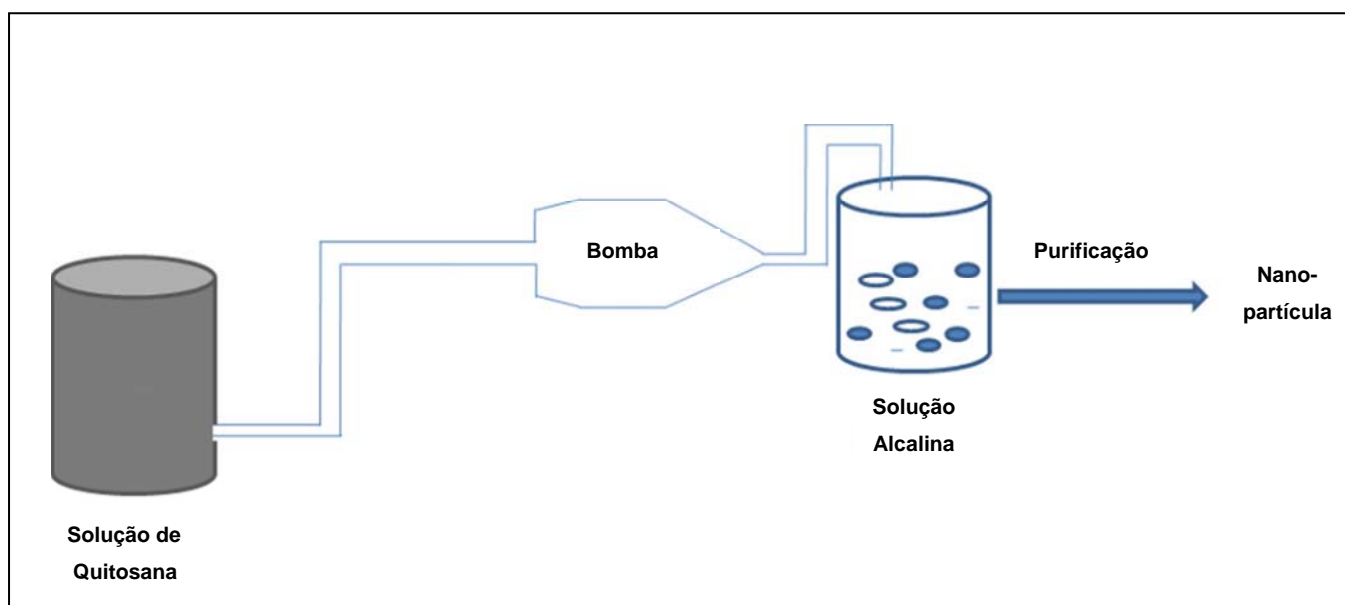
A variação da solubilidade da quitosana em diferente pH é a propriedade utilizada neste método. Quitosana é insolúvel em meio pH alcalino e precipita quando entra em contato com a solução alcalina. Solução de quitosana é gotejada em uma solução alcalina (FIGURA 19), como hidróxido de sódio, NaOH-metanol usando um bico de ar comprimido para formar gotículas. Separação e purificação de

partículas são realizados por filtração / centrifugação, seguida pela lavagem sucessiva com água quente e fria (DASH e col., 2011).

Variação da pressão de ar comprimido, diâmetro do bocal e concentração da solução pode ser utilizados para controlar o tamanho das partículas. A liberação do fármaco pode ser controlada através de agente de reticulação adequados.

Esta técnica foi usada para preparar nanopartículas de quitosana-DNA (MAO e col., 2001). Parâmetros de processamento, tais como as concentrações de DNA, a quitosana, sulfato de sódio, temperatura, pH do tampão e massas moleculares da quitosana e DNA foram investigados. O tamanho das partículas obtidas variaram de 100-250 nm. Carga de superfície dessas partículas foi ligeiramente positiva, com um potencial zeta de 11,2-11,8 mV em pH menor que 6,0, e tornou-se quase neutra em pH 7.2. Os resultados indicaram que as nanopartículas poderiam proteger parcialmente o DNA encapsulado da degradação.

Figura 19 - Representação esquemática da preparação de nanopartículas de quitosana pelo método de precipitação



Fonte: Dash e col., 2011.

1.5.5 Autoformação ou autoagregação

Autoformação ou autoagregação correspondem à obtenção de nanopartículas poliméricas em água resultando na autoformação de nanoestruturas,

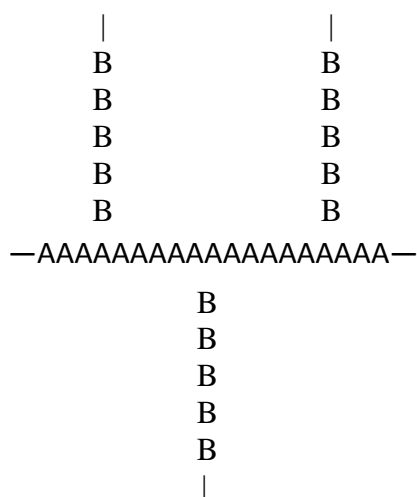
contendo um núcleo hidrofóbico e uma superfície mais hidrofílica. O processo é monitorado por diálise e ocorre de maneira espontânea, onde as moléculas vão sofrendo agregação até atingirem o tamanho e forma desejadas (HORNING e HEINZE, 2007; KIM e WHITESIDES, 1995), a concentração de agregação crítica (CAC) pode ser determinada por calorimetria, fluorescência ou tensão superficial (CHOI e col., 2010; BAE e NA, 2010).

Entretanto, para que a síntese por autoformação aconteça é necessário o polissacarídeo passar por um processo de modificação química através da introdução de grupos hidrofóbicos ao polissacarídeo, como esterificação com ácido cólico (NICHIFOR e col., 1999), ácidos graxos (RODRIGUES, 2005), como também por acetilação (TERAMOTO e col., 2006).

1.5.6 Copolimerização por enxertia

Um copolímero é um polímero que apresenta mais de um mero diferente na cadeia polimérica. A associação de polímeros diferentes para a obtenção de novos materiais pode ser conseguida através da reação de copolimerização por enxertia. Um copolímero enxertado é obtido quando a cadeia de um polímero é ligada covalentemente à cadeia de outro polímero. O copolímero enxertado ou graftizado pode ser descrito como tendo uma estrutura similar a Figura 20, onde são observadas ramificações do polímero B em diferentes pontos da cadeia do polímero A (JENKINS E HUDSON, 2001).

Figura 20 - Representação esquemática de copolímeros tipo enxertado

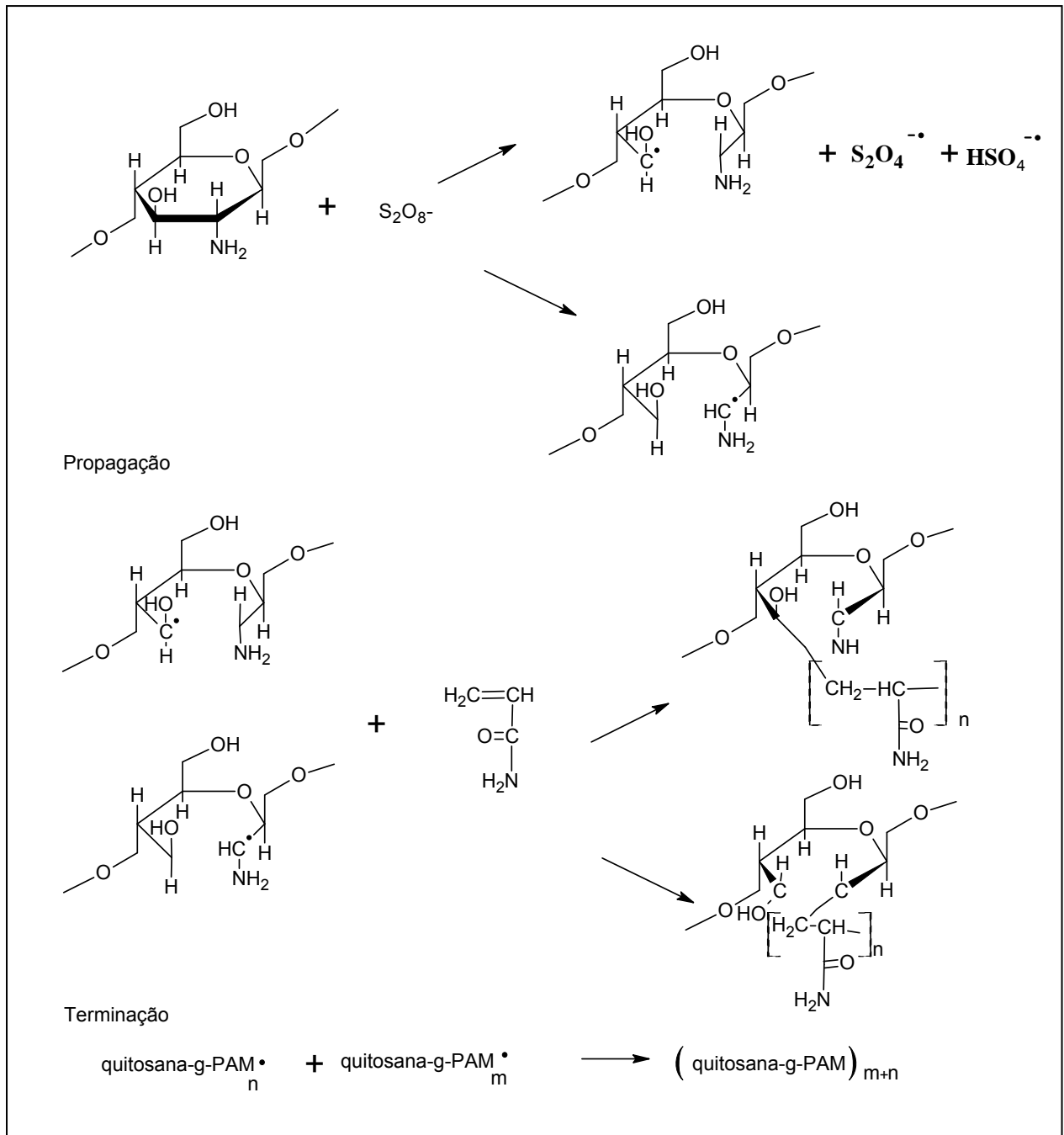


O interesse na modificação química de polímeros naturais por meio de reação de enxertia tem crescido devido ao ganho nas propriedades físico-químicas dos produtos e as novas possibilidades de aplicação industrial. Essa alternativa tem sido muito utilizada para a modificação de polissacarídeos, uma vez que a incorporação desses grupos influencia as suas propriedades físicas, químicas, mecânicas e reológicas.

Nanopartículas de polímeros naturais via enxertia de ácido acrílico foram sintetizadas, as condições reacionais investigadas são geralmente: a concentração do iniciador, monômero, substrato, temperatura, tempo, efeito da adição de solventes orgânicos, sal, surfactante e agentes complexionantes (BAJPAI e col., 1990).

Silva e col. (2009) sintetizaram nanopartículas de goma do cajueiro e ácido acrílico, os autores obtiveram tamanhos de 71 a 603 nm, concluindo que o aumento da razão unidade glicosídica/AA de 0,5 a 2,0 leva a um aumento considerável ao tamanho de partícula de 71,1 nm a 603 nm. Oliveira (2009) sintetizou nanopartículas de angico via enxertia com ácido acrílico, o autor obteve nanopartículas que variavam 6 nm à 20 nm dependendo da razão unidade glicosídica/ácido acrílico. A Figura 21 mostra um esquema reação de enxertia de quitosana e acrilamida.

Figura 21 - Esquema de reação de enxertia da quitosana



Fonte: Kumbar e col., 2003.

1.6 Goma do Chichá

O chichá (*Sterculia striata*), conhecida popularmente no Brasil como chichá, amendoim-da-mata e castanha-de-macaco (ALMEIDA e col., 1998), é uma planta nativa do cerrado, distribuída principalmente nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Bahia, Piauí, Maranhão e

Distrito Federal (SILVA E COL., 2001). A espécie é uma árvore ornamental, que fornece amêndoas, consumidas pela população, nas formas cruas, cozidas ou torradas e pela fauna, ao natural (LORENZI e col., 1996). As amêndoas de chichá, cruas e torradas, apresentam alto teor de proteínas, fibras, ácidos graxos monoinsaturados e saturados (SILVA e FERNADES, 2011) e a planta é considerada micotrófica (LACERDA e col., 2011).

Na medicina popular, suas folhas têm sido empregadas topicamente com manteiga quente ou óleo de oliva para o tratamento de furúnculos (AGRA e col., 2007), é considerada uma das árvores importantes na fabricação de papel e fornece madeira branca, macia e leve, própria para o forro de mobílias, obras internas, palito de fósforo, molduras e caixas (PIO CORRÊA, 1974). Na semente foi detectado a presença de ácidos graxos ciclopropenoídicos, impróprios para consumo humano (AUED-PIMENTEL e col., 2004; CHAVES e col., 2004), apesar disso, o óleo da semente pode ser aproveitado na preparação de biodiesel (ARAÚJO, 2008; MANGAS e col., 2012). A investigação fitoquímica das cascas do caule de *Sterculia striata* conduziu ao isolamento dos esteróides sitosterol, estigmasterol e sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo, além de quatro triterpenóides pentacíclicos, o lupeol, 3- β -O-acil lupeol, lupenona e ácido betulínico (COSTA e col., 2010)

As árvores do gênero *Sterculia* são conhecidas pela produção de polissacarídeos ácidos com soluções de alta viscosidade e característica de gelificação como observado na goma da *Sterculia urens* (LE CERF e col., 1990).

A goma do chichá é um polissacarídeo acetilado composto por galactose (23,4%), ramnose (28,8%), ácidos urônicos (galacturônico e glucurônicos, 42,2%) e resíduos de xilose (5.6%). (BRITO e col., 2004; SILVA e col., 2004). Análise por RMN mostra que a composição monossacarídica é similar a da goma caraia (*Sterculia urens*), as principais características estruturais são ilustradas na Figura 22, mostrando duas regiões principais (I e II) na cadeia de polissacarídeo.

$$a \text{ (nm)} = 0.26/B \quad (3)$$

Adição de NaCl à solução de polissacarídeo da *Sterculia striata* em diferentes forças iônicas resultam em uma diminuição da viscosidade intrínseca com o aumento da concentração do NaCl devido a uma neutralização de cargas e uma contração da macromolécula em solução diluída, como observado na goma gelana esta diminuição dos valores da viscosidade com o aumento da concentração do NaCl confirma o comportamento polieletrólito da amostra e que a cadeia se torna mais flexível com o aumento da concentração do sal (BRITO e col., 2004).

Estudo da geleificação deste polissacarídeo em comparação com a goma caraia foi realizado por reologia dinâmica e utilizando a determinação visual da temperatura de transição sol-gel (BRITO e col., 2004 e 2005). A presença de sais bem como a deacetilação afeta a formação do gel do chichá.

Tabela 6 - Valores de parâmetro de rigidez (B) para alguns polissacarídeos

Polissacarídeo	B	a (nm)	Referência
Welam	0,001	250	Robinson e col., 1990
Ramsam	0,003	88	Robinson e col., 1990
Alginato de Sódio	0,040	6,5	Smidsrød e Haug, 1971; Smidsrød, 1970
<i>Sterculia striata</i>	0,043	5,8	Brito e col., 2004
λ -Carrageenan	0,053	4,9	Morris e col., 1978
<i>Sterculia striata</i> Desacetilada	0,058	4,5	Brito e col., 2004
Carboximetilcelulose	0,065	4,1	Schneider e Doty, 1954
κ -Carrageenan	0,10	2,6	Smidsrød 1970
Sulfato de Dextrana	0,23	1,1	Smidsrød e Haug 1971

Fonte: Brito e col., 2004.

1.7 Malária

A malária é uma doença infecciosa causada por um protozoário unicelular do gênero *Plasmodium*, podendo ser transmitida para o ser humano pela picada do mosquito do gênero *Anopheles*, por transfusão de sangue ou compartilhamento de agulhas e seringas infectadas com o parasita (KRETTLI e col., 2001).

A malária ocorre com maior frequência nos países tropicais, onde quatro espécies infectam o homem: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* (FOLEY e TILLEY, 1998; KRETTLI e col., 2001). O último *World Malaria Report*, publicado em 2010 pela Organização Mundial de Saúde (OMS), reporta a diminuição do número de casos estimados de malária de 244 milhões em 2005 para 225 milhões em 2009, e a consequente redução do número de mortes de 985 mil para 781 mil no mesmo período (WHO Global Malaria Programme, 2010). Cerca de 40% da população mundial continua sob alto risco de contrair esta infecção, representando uma enorme quantidade anual, em termos de mortalidade e impacto sócio-econômico, numa vasta área do globo (WHO Global Malaria Programme, 2010). No Brasil, 99 % dos casos de malária se concentram na região da Amazônia Legal que é composta pelos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Para, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão (TABELA 7).

Cada espécie de *Plasmodium* produz um padrão de doença bastante característico, relacionado, em parte, com o momento de seu ciclo intraeritrocítico assexuado. As infecções por *Plasmodium vivax* e *P. ovale* raramente são fatais e caracterizam-se por picos febris com intervalos de cerca de 48 horas (malária terçã benigna). Com o *P. malariae*, os picos febris ocorrem em intervalos de 72 horas (malária quartã benigna) (KUMAR e col., 2005). Por outro lado, a infecção causada pelo *P. falciparum* é responsável pelas mais altas parasitemias e pela maior parte da mortalidade (PAN e col., 2010; SILVA e col., 2010; MAHEU-GIROUX e col., 2010), no Brasil, prevalecem as infecções causadas pelo *P. vivax* e *P. falciparum* (KUMAR e col., 2005).

Tabela 7 - Dados epidemiológicos de malária, por estado. Amazônia Legal, janeiro a maio de 2009 e 2010

UF	Total de Casos		% por UF	Casos de falciparum		% falciparum	
	2009	2010		2009	2010	2009	2010
AM	33.942	32.566	24,6	4.684	4.079	13,8	12,5
PA	30.065	51.697	39,1	5.997	9.899	19,9	19,1
RO	16.401	14.719	11,1	1.800	1.800	11,0	13,0
AC	11.516	15.821	12,0	1.768	2.307	15,4	14,6
AP	5.549	4.804	3,6	1.175	1.051	21,2	21,9
RR	4.479	9.952	7,5	554	1.441	12,4	14,5
MT	1.685	970	0,7	263	259	15,6	26,7
MA	1.664	1.604	1,2	625	439	37,6	27,4
TO	50	46	0,0	14	9	28,0	19,6

Fonte: Sivep-Malária e Datasus, 2010.

O ataque agudo de malária caracteriza-se por um conjunto de paroxismos febris, que apresentam quatro períodos sucessivos: o de frio, calor, suor e apirexia (TRACY e WEBSTER Júnior, 1996). A quimioterapia é o principal fator para a redução da morbidade e mortalidade relacionada à malária, segundo Kremsner e Krishna (2004).

Entre os agentes terapêuticos eficazes com ação contra os parasitas da malária estão as famílias das quinolinas (quinina, cloroquina, primaquina, mefloquina, amodiaquina, halofantrina), diclorobenzilidina (lumefantrina), biguanidas (proguanil, clorproguanil), diaminopiridinas (pirimetamina), sulfonas (dapsona), hidroxinaftoquinonas (atovaquona) e lactonas sesquiterpênicas (derivados da artemisinina, artesunato e artemeter) (LOISEAU e LE BRA, 2007). A Tabela 8 mostra fármacos antimaláricos assim como sua classificação química e o mecanismo de ação contra a doença.

Tabela 8 - Classificação de antimaláricos de acordo com sua categoria química e mecanismo de ação

Composto	Categoria Química	Mecanismo de ação
Cloroquina e amodiaquina	4 –aminoquinolina	Digestão de produtos da hemoglobina
Primaquina	8 –aminoquinolina	Inibe a respiração mitocondrial do parasita
Quinina, mefloquina e halofantrina	quinolinametanóis e fenantrenometanol	Digestão de produtos da hemoglobina
Artemisinina e seus derivados	Éter de lactona sesquiterpênica	Metabolismo das proteínas do parasito
Tetraciclina e doxiciclina	Derivados de naftaceno	Síntese das proteínas do parasito
Clindamicina	Lincosaminas	Síntese das proteínas do parasito

Fonte: Pimental e col., 2007.

As falhas no tratamento da malária são devidas a múltiplos fatores (WINSTANLEY, 2001). A complexidade dos esquemas implementados, que consistem geralmente em dois ou mais medicamentos, dificulta a adesão do paciente. O baixo índice terapêutico dos antimaláricos e algumas interações medicamentosas restringem a aplicação em alguns casos, comprometendo a eficácia do tratamento.

Adicionalmente, falhas técnicas e operacionais na execução de campanhas de combate à doença, aliadas à redução de recursos financeiros governamentais a elas destinados, à resistência do vetor aos inseticidas utilizados, à resistência do *Plasmodium* aos antimaláricos e às condições sócio-econômicas das

populações atingidas, agravam as dificuldades para a erradicação da malária no mundo (DIAS, 2002).

A toxicidade induzida pelo uso da maioria dos antimaláricos utilizados no tratamento e na profilaxia da malária é outro problema a ser minimizado para garantir a observância do paciente e assegurar o controle adequado da doença. Os antimaláricos frequentemente causam efeitos gastrintestinais adversos sem gravidade clínica, mas que irritam o paciente, tais como náuseas e vômitos causados pelo uso de mefloquina ou o prurido causado pelo uso de cloroquina, comprometendo a adesão do paciente e a eficácia do regime adotado. Efeitos mais graves podem ser observados quando o tratamento ocorre em dose única (WINSTANLEY, 2001), a Tabela 9 mostra algumas vantagens e desvantagens de alguns fármacos antimaláricos.

Tabela 9 - Fármacos antimaláricos: vantagens e desvantagens de seu uso clínico

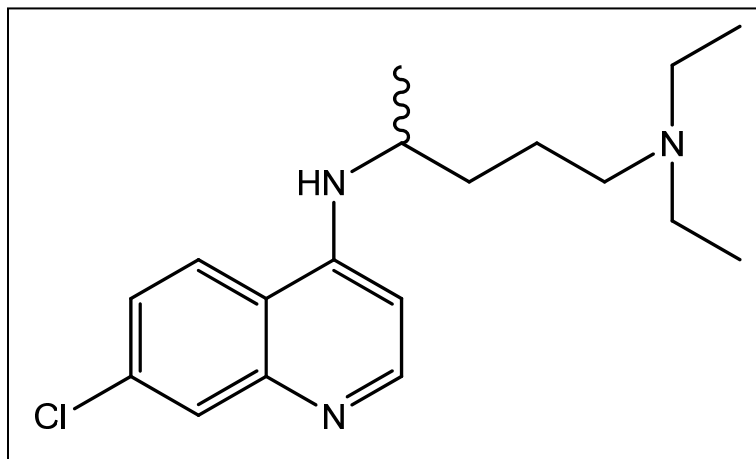
Composto	Vantagens	Desvantagens
Cloroquina	Rápida atividade esquizotocida; atividade gametocitocida para <i>P. vivax</i> e <i>P. malariae</i> ; ação antipirética e anti-inflamatória	Poucas cepas de <i>P. falciparum</i> são, ainda, sensíveis à cloroquina
Amodiaquina	Rápida atividade esquizotocida; atividade gametocitocida para <i>P. vivax</i> e <i>P. malariae</i> ; ação antipirética e anti-inflamatória	<i>P. falciparum</i> já é resistente em todas as áreas endêmicas do mundo
Primaquina	Ação profilática causal, sendo altamente ativa contra gametócitos de todas as espécies de plasmódios e contra hipnozoítos do <i>P. vivax</i>	Alta toxicidade em uso prolongado necessário para atuar contra as fases assexuadas sanguíneas; contraindicada na gravidez (hemólise em fetos) e para crianças menores de 6 anos (hipoplasia e aplasia medular)
Quinina	Eficaz contra <i>P. falciparum</i> (fármaco de escolha para a malária <i>falciparum</i> em associação com doxiciclina ou tetraciclina)	Alta capacidade de se ligar a proteínas; distribui-se por todos os fluidos do corpo; atravessa a barreira placentária e a hematoencefálica; necessidade de uso associado a outros fármacos, devido à baixa adesão quando em uso isolado; muitos efeitos colaterais (chinchonismo)
Mefloquina	Potente esquizotocida sanguíneo, altamente ativo contra <i>P. vivax</i> e <i>P. malariae</i> ; eficaz contra os	Alta capacidade de ligação à proteínas; meia vida muito longa (10–40 dias); esofagite após

	gametócitos de <i>P. vivax</i>	ingestão; potencial para induzir manifestações neuropsiquiátricas graves
Halofantrina	Ação esquizonticida sanguínea sobre todas as espécies de plasmódio	Não atua sobre gametócitos e hipnozoítos; custo elevado; variabilidade de sua biodisponibilidade; resistência cruzada com a mefloquina; cardiotoxicidade em certos grupos de risco após dosagem padrão; não deve ser usada por gestantes ou lactentes
Artemisinina e derivados	Esquizonticidas sanguíneos potentes de ação rápida	Neurotoxicidade dose/dependente
Tetraciclina	Antimicrobiano de amplo espectro com ação potente contra as fases sanguíneas e intra-hepáticas do <i>P. falciparum</i> (em combinação com a quinina)	Contra-indicado na gravidez e em crianças menores de 8 anos, pois prejudica a calcificação óssea no feto, pode resultar em osteogênese anormal e hipoplasia do esmalte dentário, atravessam a barreira placentária e são encontradas no leite materno; deve ser sempre empregada em combinação com outro antimalárico
Doxiciclina	Difere das tetraciclinas pelo fato de ser mais completamente absorvida, mais lipossolúvel e meia vida mais longa; usada no tratamento da malária por <i>P. falciparum</i>	Mesmas contra-indicações da tetraciclina; deve ser sempre empregada em combinação com outro agente antimalárico
Clindamicina	Antimicrobiano de amplo espectro esquizonticida sanguíneo eficiente; tratamento da malária por <i>P. falciparum</i>	Mais cara e mais tóxica que doxiciclina e tetraciclina; deve ser sempre empregada em combinação com outro agente antimalárico

Fonte: Pimentel e col., 2007.

A cloroquina (CQ) pertence a classe das 4- aminoquinolinas, é também conhecida como 7 - Cloro – 4 - (4 - (dietilamino) – 1 – metilbutil - amino) quinolina·2H₃PO₄ (FIGURA 23) é um dos quimioterápicos mais importantes da história da indústria químico-farmacêutica.

Figura 23 - Estrutura representacional da molécula da 7 - Cloro – 4 - (4 - (dietilamino) – 1 – metilbutil - amino) quinolina



A CQ é uma base fraca e quando na forma de sal de fosfato é bem solúvel em água, menos solúvel em etanol, pouco solúvel em solventes orgânicos como tetraidrofurano, acetonitrila e acetona, e altamente permeável. Sua solubilidade aumenta a medida que a temperatura aumenta de 298,2 para 333,2 K (DANESHFAR e VAFAFARD, 2009).

O principal problema em administrar a cloroquina em pacientes com malária e que sua concentração terapêutica e muito próxima a sua concentração tóxica. Devido a janela terapêutica da cloroquina ser bem estreita o ideal é que ela seja administrada por liberação controlada.

1.8 Liberação de Fármaco

Nos últimos anos muitas pesquisas têm sido focalizadas na preparação de carreadores de polímeros degradáveis para liberação controlada de fármacos. A administração do fármaco via tais sistemas é vantajosa porque carreadores a base de polímeros podem ser ingeridos ou injetados; podem ser adaptadas para o perfil de liberação desejado e em alguns casos podem até mesmo permitir a liberação em regiões específicas do organismo (FREIBERG e ZHU, 2004).

O termo “liberação controlada” implica na predição e na reprodutibilidade da cinética de liberação de um fármaco. A Tabela 10 mostra alguns exemplos de

sistemas que utilizam polímeros como carreadores de fármaco assim como o mecanismo da liberação.

Tabela 10 - Alguns mecanismos que acionam a liberação de fármacos no organismo

Estímulo	Polímero	Mecanismo
pH	hidrogel ácido ou básico	Mudança do pH - intumescimento – liberação do fármaco.
Força iônica	hidrogel iônico	Mudança na força iônica— alteração na carga efetiva do hidrogel— mudança na conformação – liberação do fármaco.
Espécies químicas	Hidrogel contendo grupos ceptores de elétrons	Formação de complexo de transferência de carga - mudança na conformação - liberação do fármaco.
Enzima-substrato	Hidrogel contendo enzimas imobilizadas	Substrato presente - conversão enzimática - produto muda a conformação do hidrogel - liberação do fármaco.
Magnético	Partículas magnéticas dispersas nas microesferas	Campo magnético aplicado - mudança nos poros da microesfera – liberação do fármaco.
Ultrassom	poli (etileno-vinil álcool)	Irradiação de ultrassom - aumento da temperatura - liberação do fármaco.
Elétrico	Polieletrólito	Campo elétrico aplicado- carregamento da membrana— difusão do fármaco carregada - mudança na carga do polímero—liberação do fármaco.

Fonte: www.iq.usp.br/wwwdocentes/rtorresi/portugues/interesse/drogas.htm, 2009.

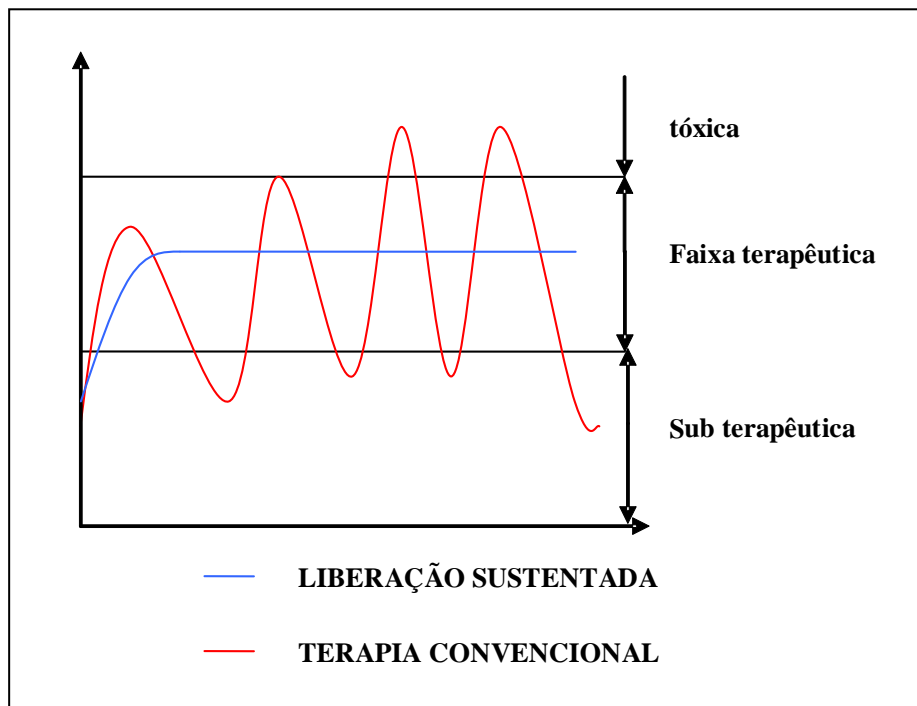
Macromoléculas têm sido utilizadas no transporte de fármacos de modo a prolongar sua ação e diminuir sua toxicidade (TAKAKURA e HASHIDA, 1995;

NASSUTE e col., 2002; ETTMAYER e col., 2004). Alguns fármacos que apresentam baixa biodisponibilidade, ou quando a substância ativa tem um efeito colateral de irritação local, podem ter esses problemas solucionados quando preparados em matriz polimérica que proporciona uma liberação controlada (SJOBLOM, 2004; PASTOR e col., 2011). Nanopartículas de quitosana e polietilenoglicol reticuladas são utilizadas para sistema de liberação de moléculas biologicamente ativas (CSABA e col., 2006), nanocápsulas de pluronic F127 e quitosana que expandem com a diminuição de temperatura foram utilizadas para liberação intracelular de moléculas pequenas (ZHANG e col., 2010).

Sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos. Nas formas de administração convencionais (nebulização "spray", injeção, pílulas) a concentração do fármaco na corrente sanguínea apresenta um aumento, atinge um pico máximo e então declina.

Desde que cada fármaco possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual ele é tóxico e abaixo da qual ele é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas. Este fato é problemático se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica. O objetivo dos sistemas de liberação controlada é manter a concentração do fármaco entre estes dois níveis por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única dosagem (Figura 24).

Figura 24 - Representação de um sistema de liberação controlada de fármaco



Fonte: www.drugdel.com/polymer.htm, 2009.

Outras vantagens é que os sistemas de liberação controlada requerem uma administração menos frequente do medicamento que as formas convencionais, portanto pacientes que precisam ingerir uma ou duas unidades de dose por dia tem menos chances de esquecer uma dose do que quando tomam a medicação três ou quatro vezes ao dia (MAURO, 2007), além disso administra-se uma quantidade menor de fármaco para produzir o mesmo efeito terapêutico que numa forma farmacêutica convencional de maior dose (MAURO, 2007).

O estudo de liberação de fármacos consiste em delinear um sistema de liberação ideal, onde a concentração terapêutica do fármaco requerida seja atingida de modo imediata no local de ação e depois mantida constante durante o tempo previsto de tratamento, reduzindo o numero de doses e os efeitos colaterais. Com isso surgiram varias definições:

- **Liberação convencional:** Destina-se a liberar o fármaco, de modo que seja absorvido completamente e com rapidez pelo organismo, caracterizado pela formação de um pico plasmático. São representados pelos comprimidos mais

comuns, como os desintegráveis, mastigáveis, efervescentes, sublinguais e bucais (ANSEL e col., 2007; COLLETT e MORETON, 2005).

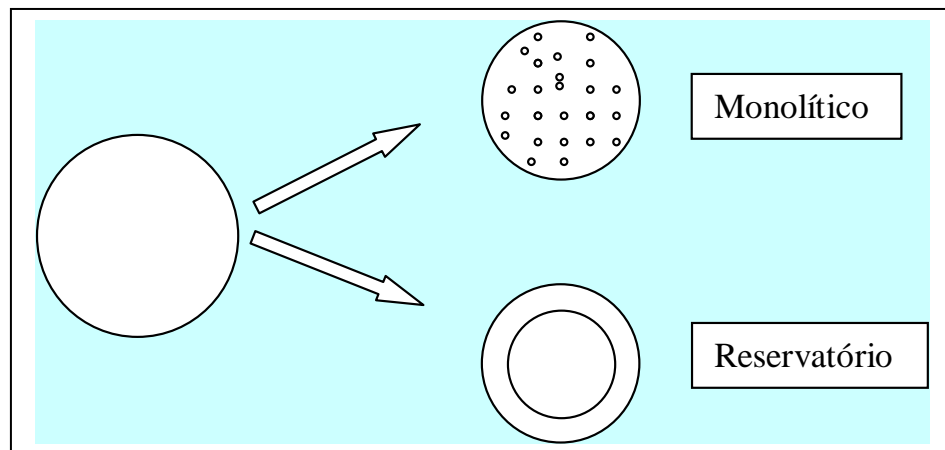
- **Liberação retardada:** As formas de liberação retardada prolongam o período de latência, ou seja, o intervalo de tempo entre a administração e a detecção do fármaco na corrente sanguínea (MARANHO, 2000). Dentre os objetivos da liberação retardada estão: (1) proteger a mucosa gástrica da ação irritante do fármaco; (2) proteger o fármaco da destruição pelo suco gástrico; (3) proteger fármacos melhor absorvidos em regiões definidas do intestino, por exemplo, comprimidos com revestimento entérico e cápsulas de liberação pulsátil (MAURO, 2007).
- **Liberação repetida:** Inicialmente nas formas de ação repetida, ocorre a liberação de uma dose individual logo após a sua administração, que se apresenta na camada mais externa do comprimido, e uma segunda ou terceira doses liberadas de 4 a 6 horas após a ingestão. Essas formulações são adequadas para fármacos que atuam em doses baixas, cuja absorção é regular e a excreção é rápida (ANSEL e col., 2007; COLLETT e MORETON, 2005, OJOE, 2003).
- **Liberação prolongada:** São disponibilizadas duas doses do fármaco, a primeira, chamada de dose inicial de liberação imediata, necessária para produzir o efeito farmacológico desejado sem causar danos ao organismo. A segunda, chamada dose de manutenção, é liberada de modo gradual, com a finalidade de prolongar a extensão da resposta farmacológica (ANSEL e col., 2007; COLLETT e MORETON, 2005, MARANHO, 2000).
- **Liberação controlada:** refere-se a formas farmacêuticas que liberam o fármaco em uma velocidade constante e fornecem concentrações plasmáticas que permanecem invariáveis com o tempo (ALLEN e POPOVICH, 2007).

Dois tipos de sistemas controlados por difusão foram desenvolvidos. O primeiro é um reservatório no qual o agente ativo forma um núcleo cercado por uma barreira difusional inerte. A taxa de liberação nesses sistemas é constante. A

velocidade de liberação é dependente da espessura, da área superficial e da permeabilidade da membrana.

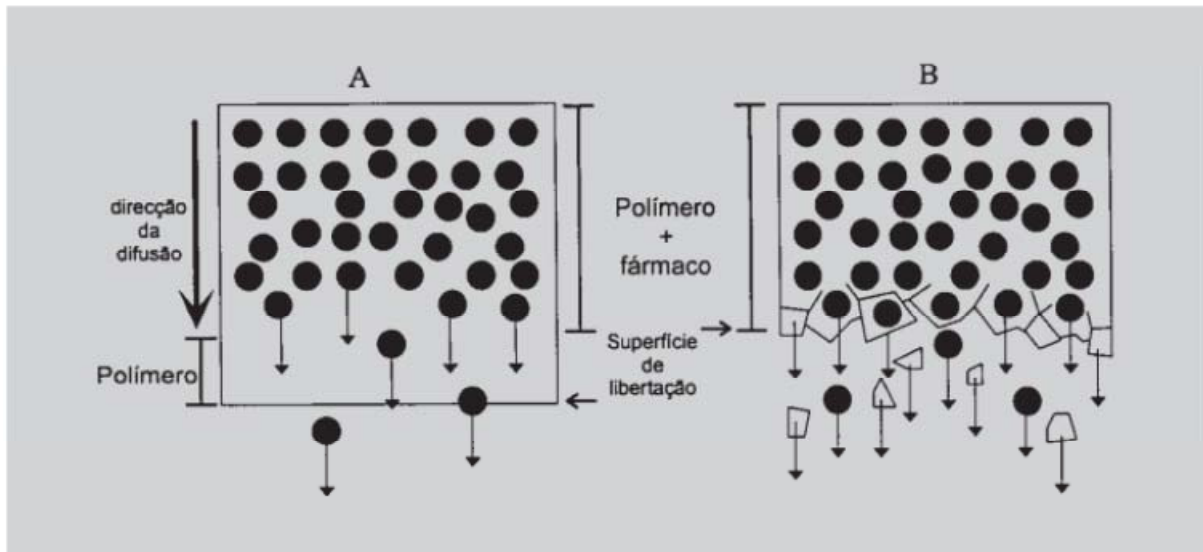
O segundo tipo de sistema controlado por difusão é o sistema monolítico, no qual o agente é disperso uniformemente na matriz polimérica, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado. O perfil de liberação é controlado pela carga do agente, pela natureza dos componentes e pela geometria do sistema. O sistema monolítico e o reservatório estão esquematizados na Figura 25.

Figura 25 - Ilustração de sistema monolítico e reservatório.



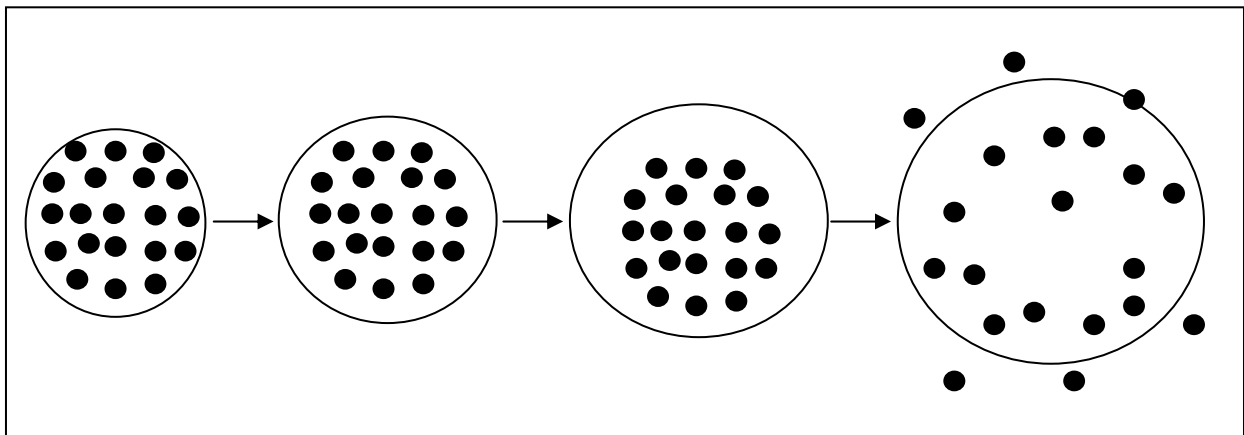
Em um sistema controlado por um mecanismo de erosão, o fármaco é geralmente imobilizado em um polímero e liberado à medida que esse é consumido no organismo (JACOBS e col., 1993) (FIGURA 26). No controle por expansão, o fármaco é inicialmente incapaz de se difundir através de um material polimérico no qual se encontra armazenado. Porém, à medida que o polímero, sob condições específicas, se expande em contato com o meio biológico, o fármaco permeia por este e é liberado (FIGURA 27).

Figura 26 - Processo de difusão (A) e erosão (B) em matriz polimérica



Fonte: Manadas e col., 2002.

Figura 27 - Sistema controlado por um mecanismo de expansão



Na indústria farmacêutica, no que se refere a microesferas e nanopartículas, o grande objetivo é utilizá-las como carreadores de fármacos. Ao associar um fármaco a um sistema nanoestruturado pode-se modificar suas propriedades cinéticas e dinâmicas e com isso melhorar sua resposta farmacológica (ALLEMAN e col., 1993).

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Sintetizar e caracterizar micro e nanopartículas à base de goma do chichá e quitosana para liberação de cloroquina.

Objetivo específico:

2.1 – Sintetizar e caracterizar microesferas de quitosana e goma do chichá por complexação eletrolítica. Testar a liberação *in vitro* de cloroquina incorporada nas microesferas em tampão fosfato pH 7,4.

2.2 – Sintetizar e caracterizar nanopartículas de goma do chichá com quitosana por complexação polieletrólítica. Testar a liberação *in vitro* de cloroquina a partir de nanopartículas de CPE formados em tampão fosfato pH 7,4.

2.3- Sintetizar e caracterizar nanopartículas de quitosana e goma do chichá oxidado via formação de base de Schiff;

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

Duas amostras de quitosana (QT) foram utilizadas: uma com massa molar $4,6 \times 10^5$ g/mol com grau de desacetilação de 82% (determinado por RMN ^1H) cedida pela Polymar (QTa) e outra com massa molar $7,82 \times 10^4$ g/mol e com grau de desacetilação de 81% (determinado por RMN ^1H) (QTb) cedidas pela Quitoquímica. A goma do chichá foi isolada e purificada por método previamente desenvolvido no laboratório e descrita em Brito e col. (2004).

3.2 Microesferas Quitosana/ Chichá (QTa/CH)

3.2.1 Preparação das microesferas de Quitosana/Chichá

A solução de quitosana (QTa) (3% m/v) 100 mL foi preparada em ácido acético 2%, sob agitação por 24 h. Essa solução foi gotejada em uma solução de chichá (3% m/v) 200 mL em NaOH 1M em uma razão 1:2 (m/m) de QT/CH através de sistema acoplado a um compressor com fluxo de ar de 10 L/h através de uma seringa equipada com uma agulha de 21 mm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro. As esferas foram lavadas com água destilada e secas a uma temperatura de 40 °C.

3.2.2 Determinação da quantidade de goma incorporada nas microesferas

A quantidade de goma presente na esfera foi determinada pelo método de Dubois e col. (1956). Uma alíquota de NaOH 1 M, utilizado para precipitar as esferas, foi retirada, em seguida essa alíquota foi neutralizada e colocada em uma membrana de diálise 14000 g/mol. Uma alíquota (0,5 ml) da solução dentro da membrana, foi pipetada para um tubo de ensaio e a amostra diluída para 2 mL com água destilada.

Adicionou-se ao tubo 24 μL de fenol 80% e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Depois a solução foi deixada em repouso por 10 minutos em seguida

agitou-se em Vortex por 12 segundos. Após esse procedimento, o tubo foi deixado a 25 °C durante 10 min. A solução foi analisada no espectrofotômetro em 490 nm.

3.2.3 Reticulação das microesferas com glutaraldeído

As esferas de QTa/CH foram imersas em solução de glutaraldeído 5% a 40°C durante 1 hora, em seguida foram lavadas com água destilada.

3.2.4 Cinética de Intumescimento

O estudo da cinética de intumescimento das microesferas foi realizado utilizando microscópio óptico Olympus CH30. Os diâmetros das esferas foram determinados no intervalo de 10 minutos na primeira hora e de 20 minutos na segunda hora em solução com pH 1,2 e tampão com pH 7,4 (n=6).

O grau de intumescimento (G.I.) é dada por:

$$G.I. = Dt / Do \quad (4)$$

onde Dt é o diâmetro em um determinado instante e Do é o diâmetro inicial.

3.2.5 Coeficiente de Difusão

O coeficiente de difusão (Dv) de moléculas de água foi determinado seguindo a metodologia descrita por Harogoppad e Aminabhavi (1992). Os autores mostram que o coeficiente de difusão pode ser calculado verificando-se a variação de volume das esferas em função do tempo pela equação:

$$\frac{\Delta V}{V_0} = 4 \cdot \left(\frac{\Delta V_{\infty}}{V_0 \cdot D_0} \right) \cdot \left(\frac{D_v}{\Pi} \right)^{1/2} \cdot t^{1/2} \quad (5)$$

onde $\frac{\Delta V_t}{V_0}$ representa variação de volume com o tempo em relação ao volume inicial,

ΔV é a variação de volume no equilíbrio. O coeficiente angular (c) do gráfico de $\frac{\Delta V_t}{V_0}$

versus $t^{1/2}$ permite o cálculo do coeficiente de difusão (Dv) utilizando a equação:

$$D_v = \left((1,773 \cdot c) \frac{V_0 D_0}{4 \Delta V_{\infty}} \right)^2 \quad (6)$$

3.2.6 Incorporação da Cloroquina às Microesferas de Quitosana/Goma do Chichá

As soluções foram preparadas na mesma proporção descrita no item 3.2.1. A solução de QT foi gotejada em uma solução de NaOH contendo 1% de cloroquina e CH.

3.2.7 Determinação da Quantidade de Cloroquina Incorporada

Para quantificar a incorporação de cloroquina fez-se uma extração em tampão fosfato pH 7,4 de força iônica 0,2 com as esferas maceradas durante 48 horas sob agitação. A quantificação foi feita a partir de uma curva de calibração no espectrofotômetro a 220 nm:

$$ABS = 0,1037 + 0,06C \quad (R=0,997) \quad \text{pH} = 7,4 \quad (7)$$

$$ABS = 0,083 + 0,05C \quad (R=0,987) \quad \text{pH} = 1,2 \quad (8)$$

Onde ABS é a absorvância, C é a concentração em mg/L e R o coeficiente de correlação.

3.2.8 Ensaio de liberação de Cloroquina

As microesferas com cloroquina incorporada (massa de aproximadamente 0,15 g) foram colocadas em 20 mL de solução com pH 1,2 e tampão fosfato 7,4 à temperatura da solução constante a 37°C. Alíquotas de 3 mL foram recolhidas para análise no espectrofotômetro a 220 nm. As alíquotas foram retiradas no intervalo de 10 minutos na primeira hora, de 20 minutos na segunda hora. Na liberação sequenciada as amostras permaneceram as primeiras duas horas em pH 1,2 e depois duas horas em pH 7,4. A liberação foi feita em triplicata.

3.2.9 Mecanismo da liberação do fármaco a partir da matriz polimérica

A liberação dinâmica de fármacos pode ser analisada por uma equação empírica proposta por Ritger e Peppas (1987).

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

onde M_t é a porcentagem do fármaco liberado em um determinado instante e M_∞ é a porcentagem do fármaco liberado no equilíbrio, k é a constante de velocidade, t é o tempo em minutos e n é um parâmetro que representa o tipo de transporte.

Um mecanismo de transporte Fickiano do tipo I é descrito por um fenômeno de difusão, enquanto que um mecanismo Fickiano do tipo II é caracterizado por um fenômeno de relaxação constante. Estes dois fenômenos possuem valores de n de 0,43 e 0,85, respectivamente. Um fenômeno de transporte não Fickiano é descrito por um fenômeno de relaxação e difusão e possuem valores de n entre 0,43 e 0,85 (RITGER e PEPPAS, 1987).

3.2.10 Microscopia Óptica

Os diâmetros das microesferas foram medidos utilizando um microscópio óptico Olympus CH30 ($n=20$), com o objetivo de calcular a variação de diâmetro das microesferas durante o intumescimento.

3.3 Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá

3.3.1 Preparação das nanopartículas por complexação polieletrólítica

As soluções de quitosana de diferentes massas molares (QTa e QTb) foram preparadas com concentração de 10^{-3} g/mL e 10^{-4} g/mL. Inicialmente foi adicionando a quantidade estequiométrica de HCl 0,1M necessária para protonar os grupos NH_2 e então o pH da solução foi ajustado para pH= 4,0 com solução de NaOH e a força iônica mantida em $I= 0,05$ pela adição de NaCl. A goma do chichá foi dissolvida (10^{-3} g/mL ou 10^{-4} g/mL) em água deionizada e então o pH e força iônica ajustados de modo similar à solução de QT. Todas as soluções foram filtradas em membrana milipore 0,45 μm . Para estudar a influência da massa molar da quitosana na formação dos complexos, volumes pré determinados de solução de CH foram gotejados sobre as soluções de quitosana de diferentes massas molares de

modo a obter-se diferentes razões de cargas positivas (n^+) e negativas (n^-). Esse sistema foi denominado CHQTa para quitosana de alta massa molar e CHQTb para baixa massa molar. O efeito da ordem de gotejamento também foi verificado, soluções de QT foram gotejadas em uma solução de CH denominado QTCH. O sistema foi mantido sob agitação durante o gotejamento. O produto final é deixado em repouso por 24 h. A Tabela 11 mostra a denominação dos produtos formados.

Tabela 11 - Nanopartículas de QT e CH obtidas via complexação polieletrólíticas

Ordem de Gotejamento	Produto
QT gotejada em CH	QTCH
CH gotejada em QT	CHQT

- Para QTa massa molar 168,6 g/mol e grau de desacetilação de 82%:
 10^{-3} g/ml \rightarrow mol = $10^{-3}/168,6 = 5,93 \times 10^{-6}$ mol/mL \times 82% = $4,86 \times 10^{-6}$ mol n^+ /mL
 10^{-4} g/ml \rightarrow mol = $10^{-4}/168,6 = 5,93 \times 10^{-7}$ mol/mL \times 82% = $4,86 \times 10^{-7}$ mol n^+ /mL
- Para QTb massa molar 168,6 g/mol e grau de desacetilação de 81%:
 10^{-3} g/ml \rightarrow mol = $10^{-3}/168,6 = 5,93 \times 10^{-6}$ mol/mL \times 81% = $4,80 \times 10^{-6}$ mol n^+ /mL
 10^{-4} g/ml \rightarrow mol = $10^{-4}/168,6 = 5,93 \times 10^{-7}$ mol/ml \times 81% = $4,80 \times 10^{-7}$ mol n^+ /mL
- Para CH massa molar 169,07 g/mol e porcentagem de ácido urônico de 42,2%:
 10^{-3} g/mL \rightarrow mol = $10^{-3}/169,07 = 5,91 \times 10^{-6}$ mol/mL \times 42,2% = $2,49 \times 10^{-6}$ mol n^- /mL
 10^{-4} g/mL \rightarrow mol = $10^{-4}/169,07 = 5,91 \times 10^{-7}$ mol/mL \times 42,2% = $2,49 \times 10^{-7}$ mol n^- /mL

As amostras foram feitas em triplicatas, e as razões de cargas positivas e negativas (n^+/n^-) foram as seguintes: 20; 15; 10; 8; 6; 5; 4; 2; 1; 0,7; 0,5; 0,3; 0,1.

3.3.2 Incorporação e Liberação de Cloroquina

A incorporação da cloroquina foi realizada a partir de matrizes de QTaCH, CHQTa, QTbCH e CHQTb de concentração 10^{-4} g/mL com razões de cargas (n^+/n^-) de 5 e 0,1 em triplicata. O fármaco, 0,1% (m/v), foi dissolvido na solução de QT. A

dispersão foi centrifugada por 3 h em 36.000 rpm e o resíduo seco em temperatura de 50 °C.

O resíduo de nanopartículas, 25 mg, foram redispersada em 16 mL, colocados em membrana de diálise e em seguida foram imersos em 160 mL de tampão fosfato 7,4 a 37°C. Alíquotas de 3 mL foram recolhidas para análise no espectrofotômetro a 220 nm.

3.4 Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá Oxidada

3.4.1 Oxidação da Goma do Chichá

A reação de oxidação parcial da goma do chichá foi realizada por modificação do método descrito por Maciel (2005), Christensen e col. (2001) e Dawlee e col. (2005). A goma do chichá (1,0 g, $6,17 \times 10^{-3}$ mol de unidades glicosídicas) foi dissolvida em água destilada por 24 horas. Quantidades distintas de NaIO_4 foram adicionados de modo a obter razões molares de unidades glicosídicas/periodato de 10:4 e 10:8 (TABELA 12).

A mistura reacional foi deixada por 6 horas à temperatura ambiente e após este período etilenoglicol foi adicionado com a finalidade de interromper a reação. A goma do chichá oxidada (CHox) obtida foi dialisada contra água destilada para eliminação de excesso de reagente e posteriormente liofilizada.

Tabela 12 - Dados experimentais da reação de oxidação da goma do chichá

Produto	Mol de NaIO_4	Razão Molar CH/ IO_4^-
CHox1	$2,47 \times 10^{-3}$	10:4
CHox2	$4,94 \times 10^{-3}$	10:8

O grau de oxidação da goma do chichá foi determinado por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS, como descrito por Gómez e col.(2007). Neste método, utiliza-se um indicador preparado com volumes iguais de soluções de KI (20% m/v) e amido (1% m/v) dissolvidos em tampão fosfato pH 7,4. Para determinação do teor de periodato foi retirado 2,5 mL da solução reacional,

após 6 horas de reação, e misturado com 1,5 mL do indicador, em seguida, o volume foi completado para 5,0 mL com água destilada.

O complexo formado é diluído adequadamente para análise num espectrofotômetro Hitachi U-2000 em 486 nm. A diferença entre a quantidade inicial e final de periodato corresponde à quantidade de unidades glicosídicas oxidadas.

A curva padrão (Equação 7) do íon periodato foi utilizada para calcular a concentração de NaIO_4 não consumido durante a oxidação.

$$\text{ABS} = 0,02 + 0,26 \cdot [\text{O}_4^-] \times 10^{-5} \quad (10)$$

onde ABS é a absorvância medida e $[\text{IO}_4^-]$ é a concentração do íon periodato em mol/L.

3.4.2 Preparação das nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá Oxidada

As soluções de QTa e QTb foram preparadas na concentração de 0,01% (m/v) dissolvido em ácido acético 1% (v/v) e posteriormente o pH foi ajustado para 6,5. A solução de CHox 0,01% (m/v) foi dissolvida em água mili-Q. Todas as soluções foram filtradas em membrana milipore 0,45 μm . As nanopartículas foram preparadas alterando-se a ordem de gotejamento nas proporções de 10:1, 1:1 e 1:10 massa/massa (TABELA 13).

Tabela 13 - Nanopartículas de QT e CHox (1 e 2)

Produto	Ordem de Gotejamento	Razão massa/massa
QTCHox 10:1		10 de QT / 1 de CHox
QTCHox 1:1	QT gotejada em CH	1 de QT / 1 de CHox
QTCHox 1:10		1 de QT / 10 de CHox
CHoxQT 10:1		10 de CHox / 1 de QT
CHoxQT 1:1	CH gotejada em QT	1 de CHox / 1 de QT
CHoxQT 1:10		1 de CHox / 10 de QT

3.5 Métodos de Caracterização

3.5.1 Tamanho de partícula

O diâmetro hidrodinâmico e a distribuição de tamanho das nanopartículas e potencial zeta foram determinados a 25°C utilizando o equipamento Nano Zeta Sizer Malvern, Modelo ZS 3600 com feixe de luz vermelha contínua e comprimento de onda de 633 nm e ângulo de espalhamento de 173°.

3.5.2 Estabilidade das partículas em solução

Durante um período de 30 dias, de 2 em 2 dias, foi medido o diâmetro hidrodinâmico das partículas a fim verificar sua estabilidade em solução.

3.5.3 Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em espectrofotômetro modelo 8300 da Shimadzu entre 400 e 4000 cm^{-1} . As amostras foram analisadas por absorbância em pastilhas de KBr.

3.5.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H de soluções das amostras (~2,5%) em D_2O foram obtidos em equipamento Bruker Modelo Avance DRX500, com controle de temperatura, a 70°C.

3.5.5 Análise Termogravimétrica

O comportamento térmico das amostras foi analisado no equipamento Shimadzu TGA 50H em atmosfera de ar sintético, com fluxo de 50 mL/min. A taxa de aquecimento foi de 10°C/min numa célula de platina e massa em torno de 10 mg.

3.5.6 Cromatografia de Permeação em Gel

O volume de eluição (V_e) foi determinado por cromatografia de permeação em gel (GPC) em cromatógrafo SHIMADZU LC-10AD com detector de índice de refração RID-6A, coluna Ultrahydrogel linear 7,8 x 300 mm, com fase móvel de NaNO_3 0,1 mol/L, fluxo de 0,5 mL/min e o volume de amostra foi de 50 μL .

3.5.7 Análise Estatística

A análise estatística foi feita através do programa PRISM. O programa compara as variações de tamanho das repetições como também as variações de uma razão para outra. O resultado é obtido por valores menores ou maiores que P. Quando a análise indica $P < 0,05$ os valores são significativos e quando $P > 0,05$ os valores não são significativos. No caso do resultado ser significativo, o programa mostra que pode ser pouco significativo (* $P < 0,05$), significativo (** $P < 0,05$) e muito significativo (***) $P < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Microesferas de Quitosana e Goma do Chichá

Os diâmetros das microesferas reticuladas e não reticuladas foram de $544 \pm 3 \mu\text{m}$ e $558 \pm 2 \mu\text{m}$, respectivamente. As esferas reticuladas mostraram ser insolúveis em meio ácido.

A partir do método de Dubois e col. (1956) verificou-se que 83,4% da massa de chichá utilizada na preparação das esferas foi incorporada. Utilizando-se 3 g de quitosana com grau de desacetilação de 82% e massa molar de 168,6 g/mol resulta em um n^+ igual $1,46 \times 10^{-3}$. Utilizando 6 g de chichá com 42,2% de ácido urônico, massa molar de 169,07 g/mol e 83,4% de poliânion incorporado resulta em um n^- de $1,25 \times 10^{-3}$. A razão molar de carga positiva e negativa (n^+/n^-) é igual a 1,2.

4.1.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Na Figura 28 podem-se observar os espectros de infravermelho para as amostras de quitosana (QT), goma do chichá (CH) e esferas de quitosana e goma do chichá reticuladas (QT/CHR). A goma do chichá na forma ácida apresenta banda em 1625 cm^{-1} referente a deformação axial assimétrica de COO^- , banda em 1420 cm^{-1} referente a deformação axial de COO^- e banda em 1734 cm^{-1} referente a deformação axial C=O do grupamento acetil (Brito, 2000). A quitosana apresenta bandas em 1084 cm^{-1} , atribuídas à estrutura sacarídica e uma absorção característica de grupo amino em torno de 1597 cm^{-1} . O grupo de amida I (C=O) apresenta absorção característica em torno de 1655 cm^{-1} . O aparecimento de duas bandas na região de $1540\text{-}1570 \text{ cm}^{-1}$ nos complexos é atribuída à deformação angular simétrica de N-H em grupos NH_3^+ . Esse resultado evidencia a formação do complexo polieletrólítico. A Tabela 14 apresenta atribuições características da goma do chichá e da quitosana.

Figura 28 - Espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de quitosana (QT), goma do chichá (CH) e esferas de QTCH reticuladas

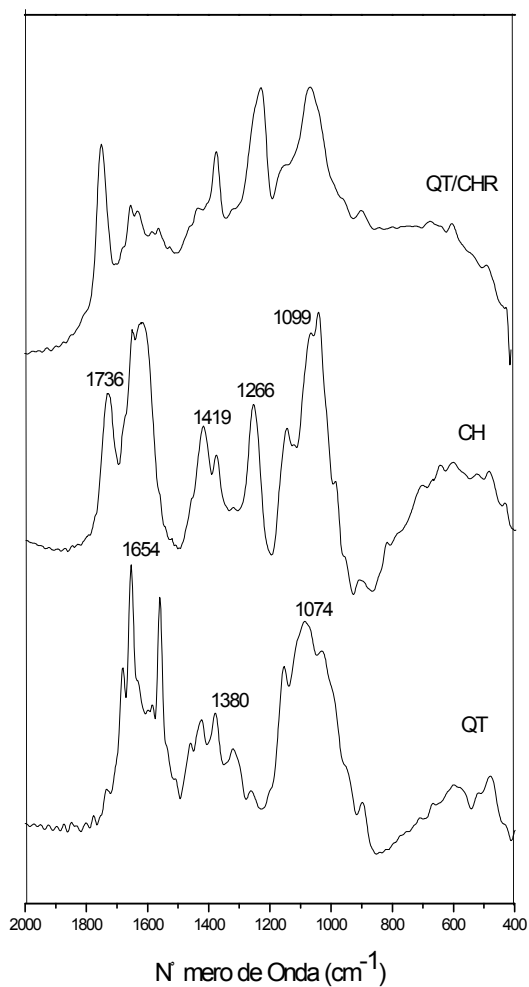


Tabela 14 - Atribuições de algumas bandas na região do infravermelho dos polissacarídeos e do complexo

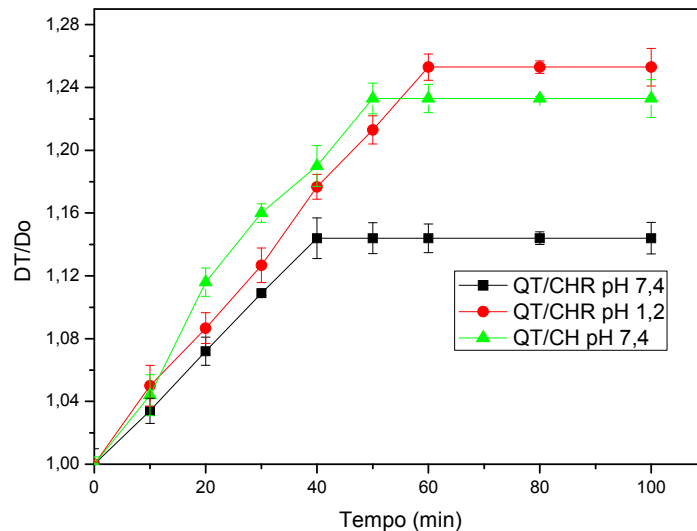
Chichá		Quitosana	
Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
1736	ν C=O do grupamento acetil	1068	ν C-O de álcool primário
1623	ν_{as} COO ⁻	1074	ν C-N de amina

			alifática
1419	✓ COO ⁻	1654	✓ C=O do grupo acetoamida
1266	✓ C-O éster do grupo acetil	1380	✓ C-H do grupo CH ₃ referente ao grupo acetoamida
1150	✓ C-O éster da ligação glicosídica	1400	grupos alquis e carboxilatos (O-C-O)
1090	✓ C-O álcool secundário	1735	C=O de grupos ésteres

4.1.2 Ensaio de Intumescimento

A Figura 29 mostra o ensaio de cinética de intumescimento das microesferas de quitosana e chichá sem reticulação (QT/CH) e com reticulação (QT/CHR). Observa-se que as microesferas de QT/CHR intumescem mais em pH 1,2 do que em pH 7,4 devido à protonação do grupo amino (-NH₂) da quitosana em meio ácido, ocorre repulsão desses grupos ionizados como consequência ocorre a expansão da cadeia polimérica. Em pH 7,4 os grupos carboxílicos (-COOH) da goma do chichá são ionizados e ocorre uma repulsão entre esse grupos ionizados, ocorrendo também a expansão da cadeia neste meio. As esferas de QT/CH intumescem mais do que as microesferas de QT/CHR em pH 7,4, isto ocorre devido a perda de mobilidade da cadeia polimérica por causa da reticulação pelo glutaraldeído.

Figura 29 - Intumescimento das esferas de QT e CH reticuladas e não reticuladas



A Figura 30 mostra o intumescimento sequenciado das microesferas de QT/CHR em pH 1,2 e 7,4. As microesferas intumescem bastante em pH 1,2 e desintumescem em pH 7,4. Quando as microesferas passam do meio ácido para o meio básico observa-se uma contração dessas, isto pode ser devido à desprotonação dos grupos -NH_3^+ da quitosana ocorrendo um desintumescimento, isto pode ser devido baixa densidade de reticulação da cadeia polimérica com glutaraldeído o que leva a capacidade de relaxação da cadeia como consequência o desintumescimento da microesfera. Este comportamento é semelhante ao das microesferas de QT co-reticuladas com tripolifosfato (TPP) e genipina, relatadas por Mi e col. (2003) onde a mudança de pH de 1,2 para 7,4 provoca uma diminuição da capacidade de intumescimento. A Tabela 15 mostra o Coeficiente de Difusão das microesferas de QT/CH em pH 7,4 e QT/CHR em pH 1,2 e 7,4.

Figura 30 - Intumescimento sequenciado das esferas de QT/CHR em pH 1,2 e 7,4

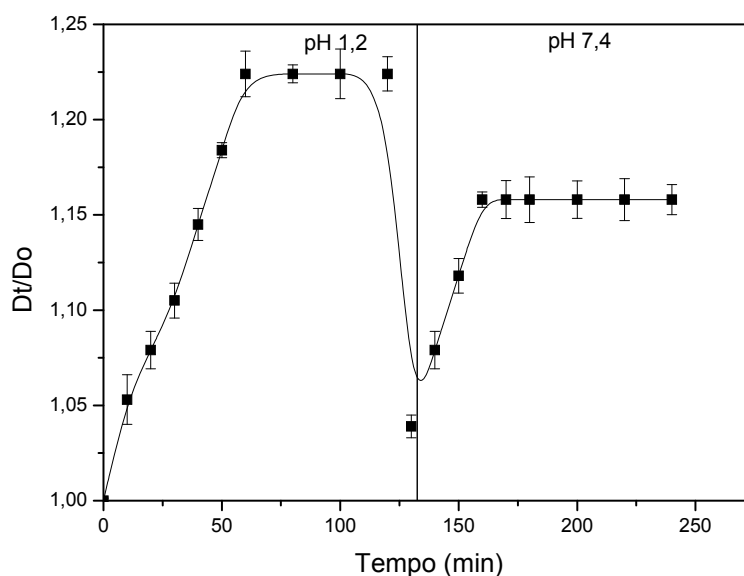


Tabela 15 - Coeficiente de Difusão em pH 1,2 e pH 7,4

Amostras	Dv (cm ² /s)	
	pH 1,2	pH 7,4
QT/CH	-	5,68 x 10 ⁻⁴
QT/CHR	5,94 x 10 ⁻⁴	3,11 x 10 ⁻⁴

Os coeficientes de difusão aumentam com o aumento do intumescimento e as microesferas não reticuladas têm um coeficiente de difusão maior do que as reticuladas em pH 7,4.

Mundargi e col. (2008) sintetizaram microesferas de amido que variavam de 96 a 158 μm reticuladas com epícloridrina para a liberação de ampicilina. O estudo mostrou que os coeficientes de difusão em pH 1,2 variavam de $3,1 \times 10^{-6}$ a $4,72 \times 10^{-6}$ cm^2/s , e que um aumento na quantidade do reticulante diminuía o coeficiente de difusão nas microesferas. Magalhães Jr. e col. (2009) encontraram valores de coeficiente de difusão de esferas de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada que variavam de $3,86 \times 10^{-7}$ a $21,5 \times 10^{-7}$ em tampão fosfato de pH 7,4. Os valores elevados do coeficiente de difusão obtidos para as esferas de

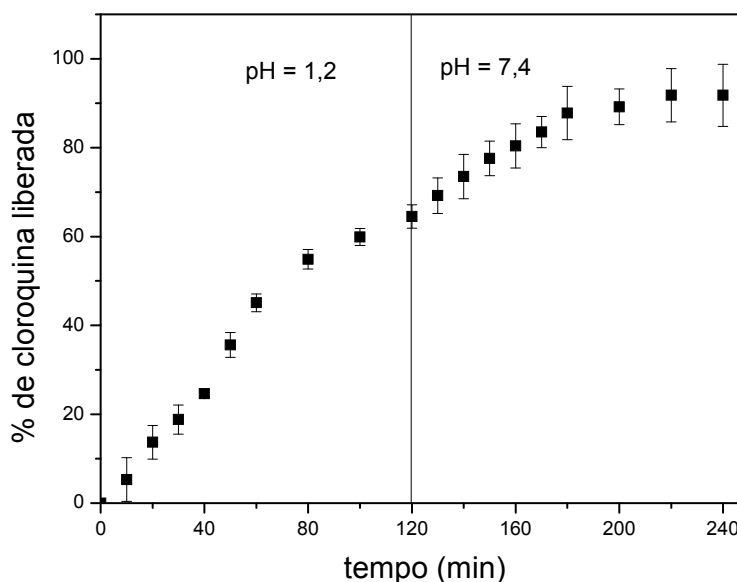
quitosana e chichá podem ser devidos a elevada quantidade de grupos carboxílicos na goma do chichá (42,2%), o que proporciona uma elevada hidrofiliçidade.

Microcápsulas de goma gelana e albumina foram sintetizadas e reticuladas com cloreto de cálcio (KULKARNI e col., 2011). Os resultados mostram que o coeficiente de difusão variavam de $3,13 \times 10^{-6}$ a $5,62 \times 10^{-6}$ cm^2/s , e que o valor do coeficiente de difusão diminuía com o aumento da quantidade de agente reticulante utilizado na síntese das microcápsulas.

4.1.3 Ensaios de Liberação

A liberação de cloroquina foi realizada em pH 1,2 e 7,4 (FIGURA 31). O encapsulamento de cloroquina foi de 27% e a liberação sequenciada mostrou que 64% do fármaco foi liberado em pH 1,2, e em pH 7,4 chegou a liberar 92% em 2h de liberação.

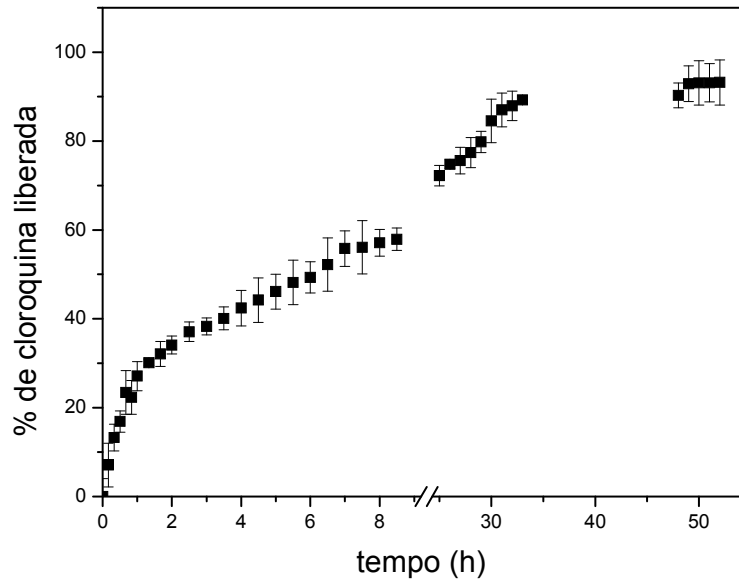
Figura 31 - Liberação sequenciada de cloroquina para esferas de QT/CHR



A liberação de cloroquina também foi realizada em tampão fosfato 7,4, mostrado na Figura 32. A liberação mostrou que apenas 34% da cloroquina foi liberada em pH 7,4 nas primeiras duas horas. A liberação foi realizada por cerca de

50 horas, onde foi alcançado o valor máximo de cloroquina liberada, cerca de 93% do fármaco foi liberado. Este retardamento da quantidade de fármaco liberado pode ser explicado devido à pequena taxa de intumescimento da amostra em pH 7,4.

Figura 32 - Liberação de cloroquina em pH 7,4 para esferas de QT/CHR



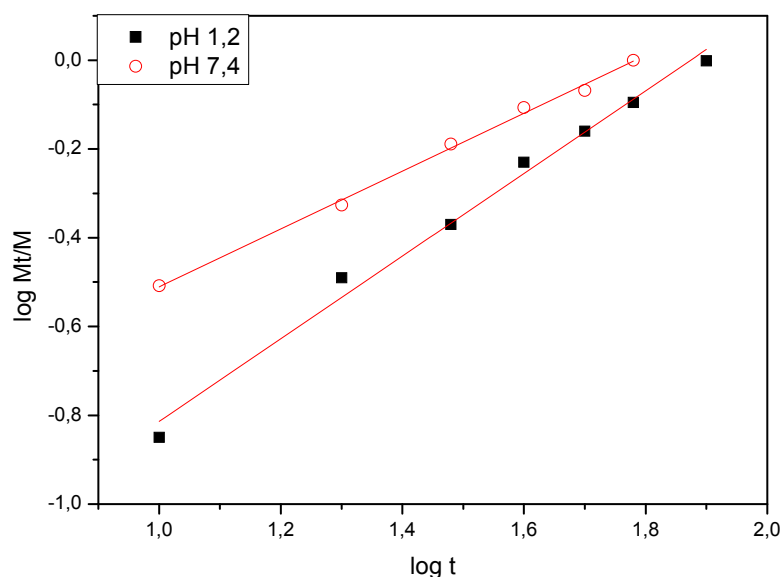
Magalhães Jr. e col. (2009) sintetizaram esferas de quitosana com diferentes massas molares e goma do cajueiro carboximetilada não reticuladas com diferentes graus de substituição para liberação de BSA em tampão pH 7,4, os resultados mostraram que 100% do BSA foi liberado em 50 a 80 minutos de liberação.

Hidrogéis de goma *Sterculia* e poliácridamida foram sintetizadas para liberação de fármaco anti-úlceras (SINGH e SHARMA, 2008). Verificou-se que a quantidade de fármaco liberada era maior em pH 1,2 comparada com a quantidade de fármaco liberada em pH 7,4 e em água destilada.

Das e col. (2011) sintetizaram esferas de quitosana e pectina reticuladas com acetato de zinco para liberação controlada de fármaco no cólon. Os autores verificaram que quanto maior o tempo de reticulação das partículas mais lento era a liberação em fluido gástrico simulado e que a mudança da massa molar da quitosana praticamente não influenciava na liberação do fármaco.

O expoente de difusão (n) foi obtido a partir do coeficiente linear do gráfico plotado de $\log M_t/M_\infty$ versus $\log t$ nos primeiros 80 min de liberação do fármaco (FIGURA 33). Os valores de n são de 0,83 e 0,65 para liberação de cloroquina em pH 1,2 e 7,4 respectivamente, indicando que as liberações são do tipo de transporte não Fickiano, isto é, a velocidade de relaxação da cadeia polimérica é equivalente à velocidade de difusão.

Figura 33 – Avaliação do comportamento difusional da liberação de cloroquina em pH 1,2 e pH 7,4



Kulkarni e col. (2011) fizeram liberação de ditiazem a partir de microcápsulas de goma gelana e albumina reticuladas com CaCl_2 . Os autores verificaram que os valores do expoente de difusão (n) dependiam da densidade de reticulação, os valores de n aumentavam com o aumento da densidade de reticulação.

4.2 Formação de Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá por Complexação Polieletrólítica (CPE)

A formação de CPE na mistura das soluções de poliânion e policátion é espontânea, e pode levar a formação de complexos solúveis em água ou precipitado. Os principais fatores que levam a formação de nanopartículas são:

a) a reatividade de ambos os poliíons no meio reacional. A reação entre íons fortes e fracos deve ser eficiente para a formação de complexos estáveis (Kabanov e Zezin 1984; Dautzenber e col., 2001; Dautzenber e col., 1996).

b) a concentração dos polímeros no meio reacional, para evitar a formação de agregados macroscópicos (Dautzenber e col., 2001; Dautzenber e col., 1996).

c) a massa molar relativas dos polieletrólitos (Kabanov e Zezin 1984).

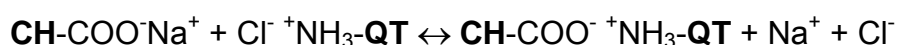
d) a natureza dos polímeros, principalmente polissacarídeos, mais susceptíveis a formar pontes de hidrogênio do que polímeros sintéticos.

Nanopartículas a base de quitosana e goma do chichá foram obtidas por meio de complexação polieletrólítica (CPE). A formação de CPE foi investigada variando a razão molar entre grupos catiônicos e aniônicos (n^+/n^-).

A quitosana foi utilizada na forma de cloridrato, preparado por dissolução em uma quantidade estequiométrica de HCl 0,1M, ou seja, o número de moles de HCl necessários para a formação do sal $\text{NH}_3^+ \text{Cl}^-$ sem excesso de HCl.

Foi verificado o efeito da ordem de adição, assim como a influência da massa molar da quitosana na formação das nanopartículas e o efeito da concentração dos polieletrólitos. Para a obtenção de complexos polieletrólíticos a goma do chichá e a quitosana foram utilizadas na concentração de 10^{-3} g/mL e 10^{-4} g/mL.

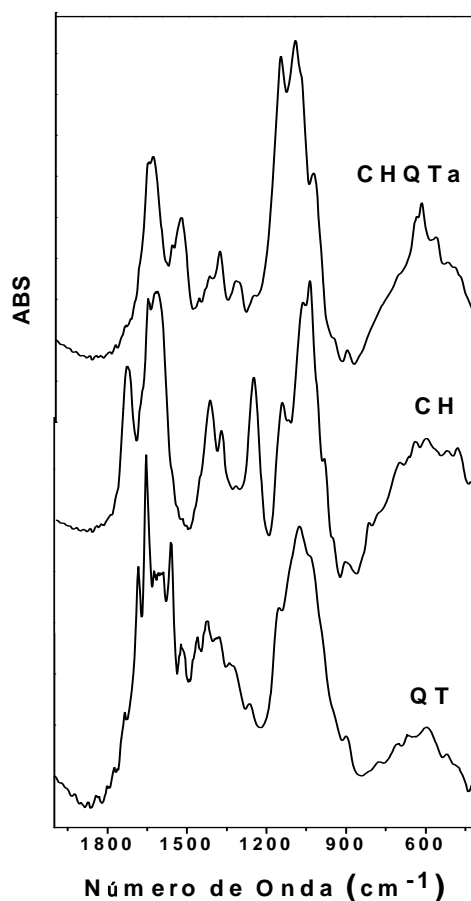
A reação de formação do complexo quando a goma é adicionada à solução de quitosana pode ser representada pela equação abaixo (BECHERÁN-MARÓN e col., 2004):



4.2.1 Infravermelho

Na Figura 34 pode-se observar os espectros de infravermelho para os complexos de CHQTa de razão n^+/n^- igual a 1 e concentração de 10^{-3} g/mL e compará-los com os da quitosana e do chichá. A goma do chichá na forma ácida apresenta banda em 1734 cm^{-1} referente à carbonila do grupamento ácido (-COOH) e em 1255 cm^{-1} referente de formação axial de C – O do éster do grupo acetil. A quitosana apresenta bandas em 1084 cm^{-1} , atribuídas à estrutura sacarídica e uma absorção característica de grupo amino em torno de 1597 cm^{-1} . O grupo de amida I (C=O) apresenta absorção característica em torno de 1655 cm^{-1} . O aparecimento de duas bandas na região de $1540\text{-}1570\text{ cm}^{-1}$ nos complexos é atribuída à deformação angular simétrica de N-H em grupos NH_3^+ . Esse resultado evidencia a formação do complexo polieletrólítico (Mi e col., 2003).

Figura 34 - Espectro de infravermelho da goma do chichá, quitosana e complexo polieletrólítico de CHQTa de razão n^+/n^- igual a 1



4.2.2 Potencial zeta

O potencial zeta foi medido com o intuito de verificar as cargas na superfície das partículas. A Figura 35 mostra o potencial zeta das amostras de CHQTa, CHQTb, QTbCH e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL e a Figura 36 mostra o potencial zeta das amostras de CHQTa, CHQTb, QTaCH e QTbCH de concentração 10^{-4} g/mL. Com a diminuição da razão de cargas (n^+/n^-) ocorre uma tendência de diminuição do potencial zeta, isto pode ser explicado pela gradativa neutralização das cargas positivas da quitosana ($-NH_3^+$) pelas cargas negativas do chichá ($-COO^-$).

Para as amostras de concentração 10^{-3} g/mL observa-se que para mesma razão molar (n^+/n^-) pode-se verificar que as partículas formadas por QTb (grau de desacetilação 81%) têm potenciais mais positivos do que as partículas formadas por QTa (grau de desacetilação 82%) mostrando que esta quitosana neutraliza com maior eficiência as cargas negativas do chichá ($-COO^-$) e que a ordem de adição dos polieletrólitos praticamente não influencia o potencial zeta. À medida que aumentam as cargas negativas esse potencial vai gradativamente decrescendo, chegando a ficar negativos. Para as amostras de CHQTb e QTbCH os potenciais começam a ficar negativos próximo da razão n^+/n^- 0,5 enquanto que para as amostras de CHQTa e QTaCH esses potenciais ficam negativos próximos da razão 0,1. Comportamento semelhante verifica-se para amostras de concentração 10^{-4} g/ml, isto é, as partículas formadas por QTb têm, na sua maioria, potenciais mais positivos do que as partículas formadas por QTa, porém observa-se uma pequena diferença no potencial zeta das amostras. Nanopartículas de QTaCH tem potencial mais positivo do que nanopartículas de CHQTa. A medida que a razão n^+/n^- vai diminuindo o potencial vai diminuindo, chegando a ficar negativo próximo a razão 0,3.

Figura 35 - Potencial zeta em função da razão de carga (n^+/n^-) de partículas de CHQTb, QTbCH, CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL (***) $P < 0,05$)

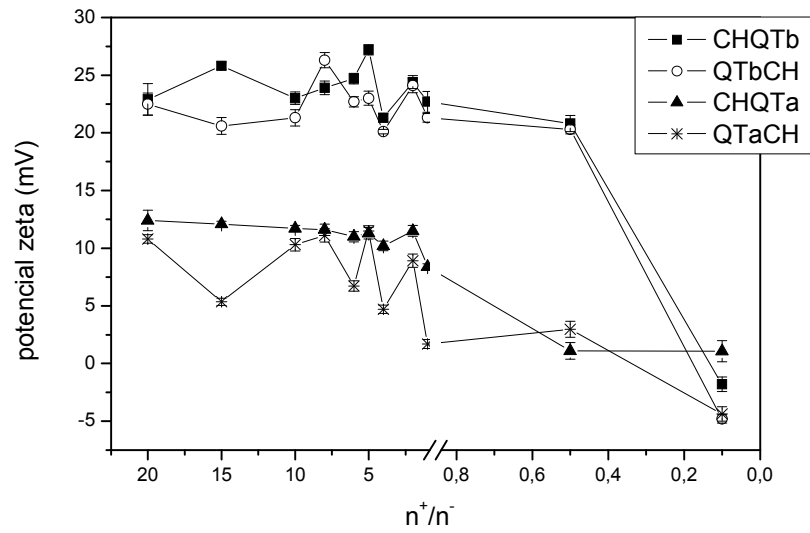
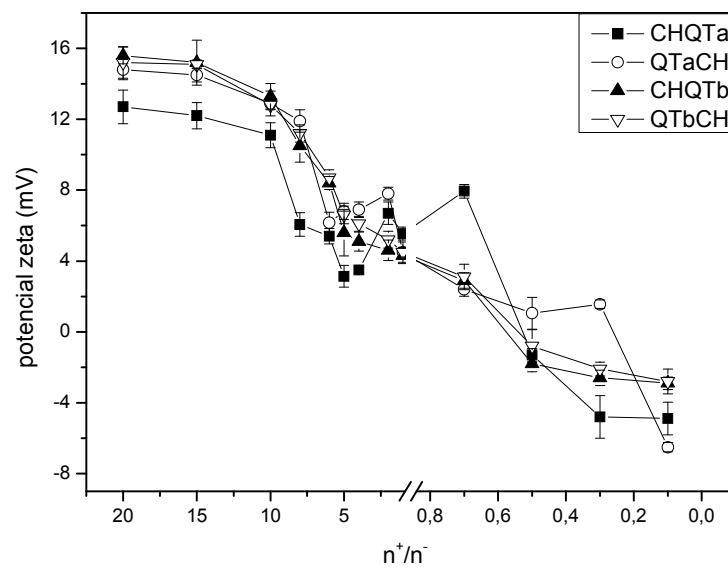


Figura 36 - Potencial zeta em função da razão de carga (n^+/n^-) de partículas de CHQTb, QTbCH, CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-4} g/mL (***) $P < 0,05$)



Giannotti e col. (2011) preparam nanopartículas por complexação polieletrólítica de trimetil quitosana (TMQ) e enzima α -GAL, o autores verificaram a formação de partículas com diâmetro médio entre 50 e 90 nm e que com o aumento na razão de massa TMQ/ α -GAL provoca uma diminuição do tamanho das partículas e que todas as suspensões mostraram um potencial entre 10 e 23 mV.

Nanopartículas de quitosana, ácido hialurônico e TPP tinham potenciais que variavam de +28,1 a +34,6 indicando que a superfície das nanopartículas é composta preferencialmente por quitosana (OYARZUN-AMPUERO e col., 2009). Shu e col. (2009) variaram a razão molar na síntese de nanopartículas de QT, polietilenoglicol (PEG) e ácido aspático (APA), o potencial zeta diminuiu de +20,21 mV a -20,38 mV a medida que se diminuía a razão QT/APA.

Boddohi e col. (2009), sintetizaram nanopartículas por complexação eletrolítica de quitosana-heparina e quitosana-ácido hialurônico em razões de cargas n^+/n^- que variavam de 0,08 à 19,2. Observou-se que potenciais positivos para razões maiores que 0,5 e potenciais negativos para razões menores do que 0,5.

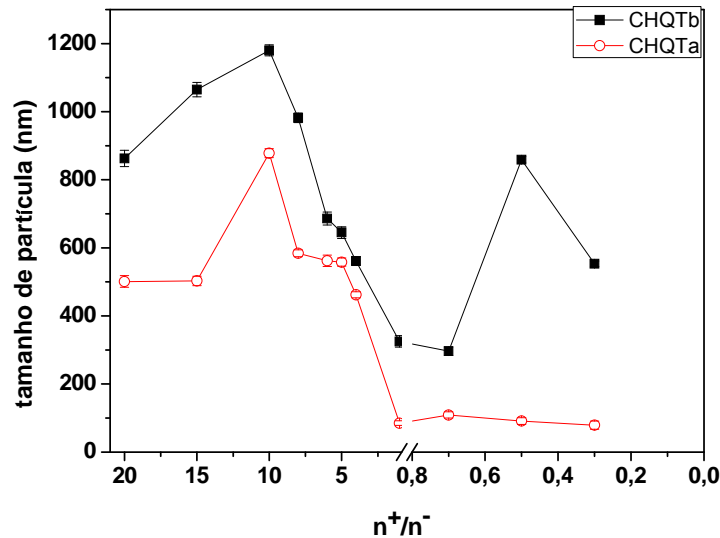
Nanopartículas de lipídios com e sem quitosana foram sintetizadas para liberação de Tretinoína (RIDOLFI e col., 2011). Os resultados mostraram que as nanopartículas de lipídios sem quitosana apresentavam potencial zeta de -31,9 mV e com quitosana +55,9 mV.

4.2.3 Avaliação dos parâmetros que influenciam o tamanho das partículas de goma do chichá e quitosana

4.2.3.1 Influência da massa molar da quitosana no tamanho das partículas

O gráfico da Figura 37 mostra os tamanhos de partícula, em nanômetro, das partículas formadas por CHQTb e CHQTa (chichá gotejado em QT) com solução de concentração igual a 10^{-3} g/mL. Verifica-se que para toda as razões de carga as partículas formadas por QTb é sempre maior do que aquelas formadas por QTa. Observa-se também que para todas as amostras os menores tamanhos de partículas são obtidos para razão de carga n^+/n^- menor do que 1, isto é, quando existe excesso de chichá.

Figura 37 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e CHQTa de concentração 10^{-3} g/ml (***) $P < 0,05$)



Comportamento semelhante foi verificado nas partículas de QTbCH e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL (quitosana gotejada em chichá) (FIGURA 38). Na grande maioria as partículas de QTb são maiores do que as de QTa. Isto indica que independe da ordem de mistura; as partículas formadas por quitosana de mais baixa massa molar (QTb) têm diâmetro maior se comparada com partículas formadas por quitosana de mais alta massa molar (QTa) e que os menores tamanhos de partículas são obtidas com baixos valores de razão n^+/n^- .

Os gráficos das Figuras 39 e 40 mostram os tamanhos de partícula, em nanômetro, das partículas formadas por QTaCH e QTbCH (quitosana gotejada em chichá) e CHQTb e CHQTa (chichá gotejado em quitosana), respectivamente, de concentração 10^{-4} g/mL. Um comportamento mais variado é encontrado nestas partículas, porém na maioria das razões n^+/n^- pode-se verificar que as menores partículas são aquelas formadas por quitosana de maior massa molar (QTa).

Figura 38 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTbCH e QTaCH de concentração 10^{-3} g/ml (**P<0,05)

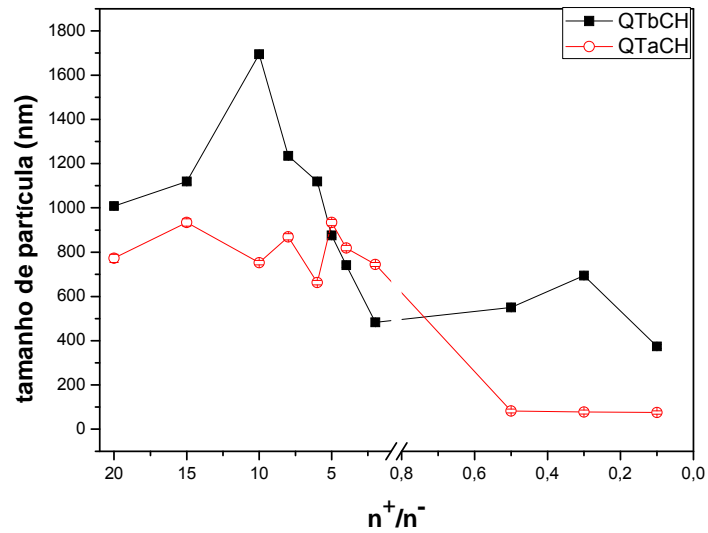


Figura 39 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTbCH e QTaCH de concentração 10^{-4} g/ml (**P<0,05)

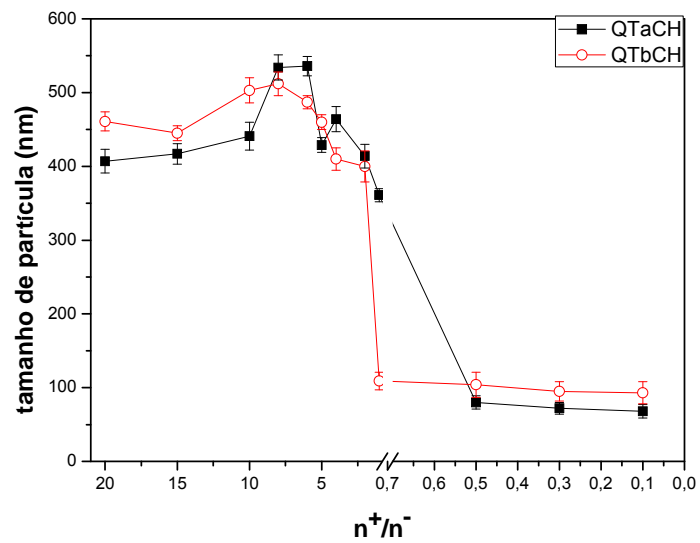
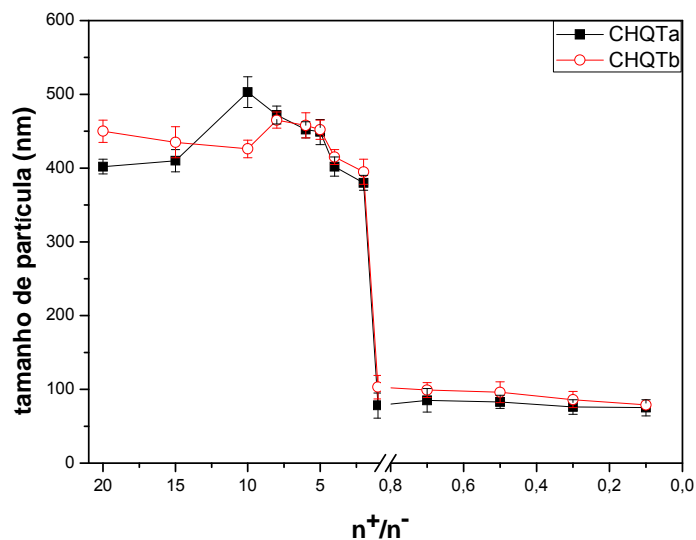


Figura 40 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e CHQTa de concentração 10^{-4} g/ml (***) $P < 0,05$)



Esse comportamento pode ser explicado com base no potencial zeta das amostras. Cerca de 90% das partículas formadas de CH e QTa tinham menor potencial na superfície do que partículas formadas por CH e QTb. Isso é um indicativo que em uma mesma razão de carga QTa neutraliza mais as cargas negativas do chichá do que QTb, indicando que aquela quitosana interage mais fortemente com o polieletrólito negativo (goma do chichá), conseqüentemente ocorre uma contração da partícula levando a formação de partículas com diâmetros menores, isto é, complexos formados por polycátions (quitosana) de massa molar maior são mais compactos do que complexo formado por polycátions de menor massa molar.

Outro fenômeno que pode explicar o tamanho das nanopartículas formadas por quitosanas com diferentes massas molares e chichá é a flexibilidade da cadeia polimérica. Chichá, que é um poliânion de cadeia semi-flexível e elevada massa molar, pode interagir com várias cadeias de quitosana de baixa massa molar, entretanto a distância entre as regiões onde QT e CH interagem não são próximas o suficiente para provocar um aumento na flexibilidade da cadeia o que ocasionaria uma estrutura maior, por outro lado quando utilizando quitosana de elevada massa

molar, as regiões das cadeias sem interação diminuem promovendo maior flexibilidade e uma estrutura mais compacta.

Schatz e col. (2004b) sintetizaram nanopartículas com quitosana de massa molar $3,65 \times 10^5$ g/mol e grau de desacetilação de 85% e 95% com sulfato de dextrana de massa molar de 5×10^{-3} e $1,5 \times 10^6$ g/mol. As partículas variavam o tamanho de 400 a 1400 nm.

Nanopartículas carregadas com heparina foram preparados pela técnica de gelificação ionotrópicos com quitosana, ácido hialurônico e o poliânion tripolifosfato (TPP) (OYARZUN-AMPUERO e col., 2009). A capacidade da QT para formar um gel após o contato com poliânions promovendo ligações inter e intramolecular permite a formação das nanopartículas. Os tamanhos das nanopartículas variaram de 162 a 217 nm e o valor da polidispersividade entre 0,11 e 0,45.

Nanopartículas de QT, poli-etilenoglicol (PEG) e ácido poliaspártico (APA) CPE foram sintetizadas variando-se a razão molar QT/APA (SHU e col., 2009). Os diâmetros das nanopartículas variavam de 209 a 99 nm e quando se diminuía a razão QT/APA ocorria a diminuição do tamanho da partícula, os autores atribuem esse fato a diferença de massa molar, porque a massa molar do APA é muito maior do que a massa molar da quitosana.

Schatz e col. (2004a) estudaram o tamanho de partícula de quitosana de diferentes massas molares e sulfato de dextrana (SD) de diferentes massas molares. O estudo mostrou que quando quitosana era adicionada a sulfato de dextrana as maiores partículas eram formadas com SD de menor massa molar e as menores partículas eram formadas com SD de maior massa molar. Neste mesmo estudo os autores verificaram o efeito da massa molar da quitosana na formação de nanopartículas, e o estudo revelou que quanto maior a massa molar da quitosana maior o tamanho do complexo.

Estudo semelhante foi feito por Schatz e col. (2004b), onde eles verificaram que um aumento na massa de sulfato de dextrana, em nanopartículas de QT e SD, ocorria uma diminuição no diâmetro. Entretanto um aumento na massa molar da quitosana e do grau de desacetilação verificava-se um aumento no diâmetro da partícula.

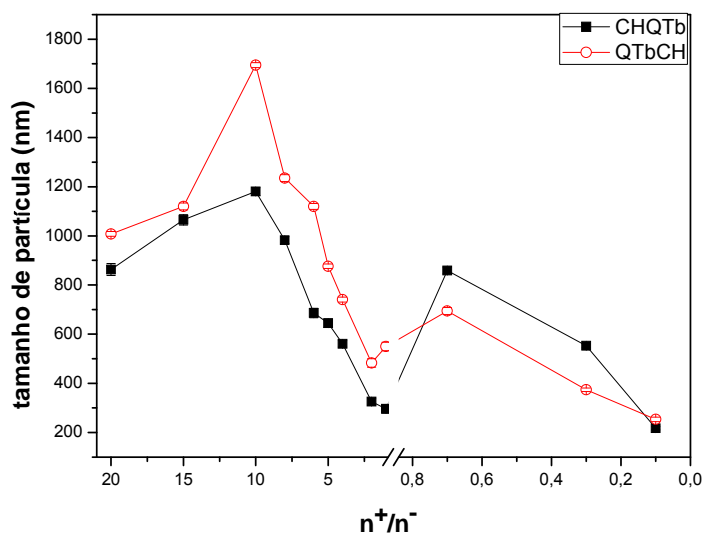
Nanopartículas de sulfobutileter- β -ciclodextrina e quitosana com diferentes massa molares foram sintetizadas por Mahmoud e col. (2011). Eles

encontraram resultados semelhantes a este trabalho, isto é, quanto menor a massa molar da quitosana maior o tamanho das nanopartículas formadas.

4.2.3.2 Ordem de adição dos polieletrólitos

A ordem de adição pode afetar a complexação e o tamanho de partícula formado (RUSU-BALAITA e col., 2003, MAO e col., 2006). A partir da Figura 41 pode-se observar que a ordem de gotejamento afeta o tamanho das partículas formadas. Partículas de CH gotejadas em QTb (CHQTb) são menores do que as formadas de QTb gotejada em CH (QTbCH) ambas de concentração 10^{-3} g/mL. Efeito semelhante é observado em partículas de CH e QTa de concentração 10^{-3} g/mL (FIGURA 42). Partículas formadas por CH gotejada em QTa (CHQTa), na sua grande maioria, são menores do que partículas de QTa gotejada em CH (QTaCH).

Figura 41 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e QTbCH de concentração 10^{-3} g/mL (***) $P < 0,05$



Para partículas formadas por CH e QTa de concentração 10^{-4} g/mL (FIGURA 43) e CH e QTb (FIGURA 44) foi encontrado comportamento semelhante às partículas de concentração 10^{-3} g/mL. A ordem de adição altera o tamanho da partícula, mostrando que amostras formadas de QT gotejada em CH, na sua grande maioria, são maiores do que as de CH gotejada em QT.

Figura 42 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL (***) $P < 0,05$)

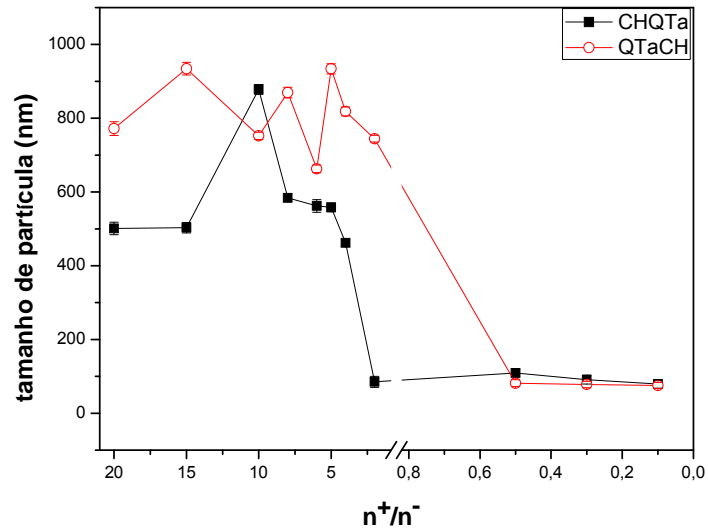


Figura 43 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-4} g/ml (***) $P < 0,05$)

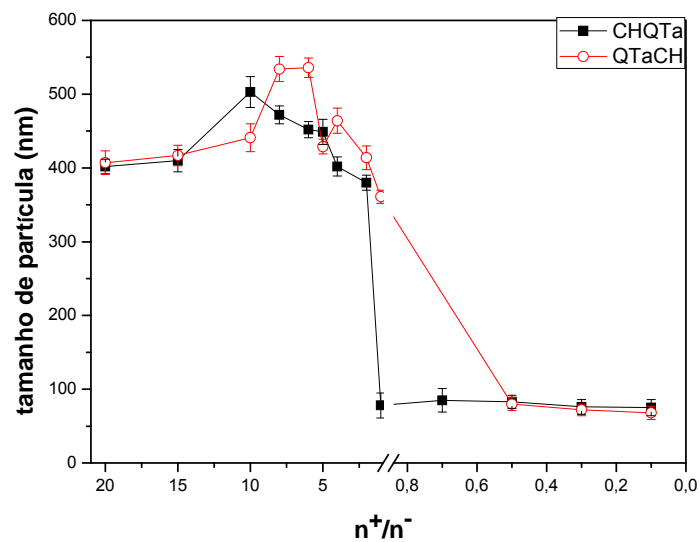
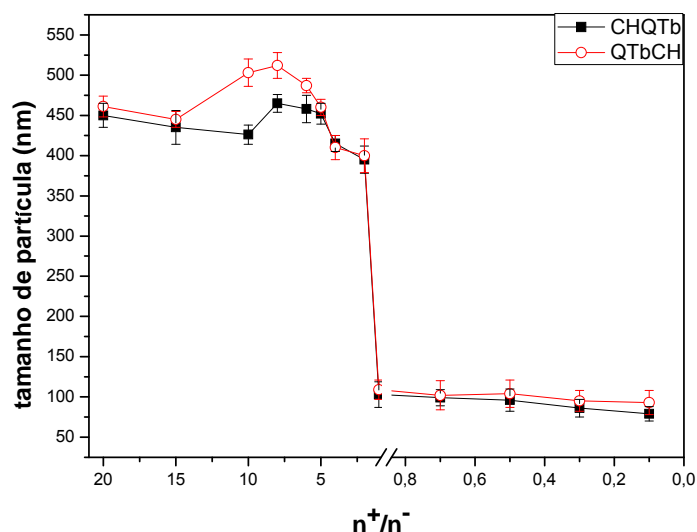


Figura 44 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb e QTbCH de concentração 10^{-4} g/ml (***) $P < 0,05$)



Jintapatanakit e col. (2007), observaram o efeito da ordem de adição de complexos polieletrólíticos de trimetilquitosana, insulina e tripolifosfato (TPP). Eles observaram que misturando insulina e trimetilquitosana e depois adicionado TPP o tamanho de partícula era maior do que misturando insulina e TPP depois adicionando trimetilquitosana.

Poon e col. (2011) sintetizaram nanopartículas via método camada por camada de quantum dot, poli-L-lisina funcionalizada e poli etileno glicol, e os autores verificaram que quando aumentava-se o número de camadas aumentava-se o volume hidrodinâmico da partícula original de 20 nm para 80 nm.

4.2.3.3 Influência da concentração dos polieletrólitos

Outro fator que pode afetar os tamanhos das partículas é a concentração das soluções do policátion e do poliânion. As Figuras 45 e 46 mostram a comparação no tamanho de partícula de CHQTa e QTaCH respectivamente, variando-se a concentração dos polieletrólitos. Verifica-se que partículas formadas por polieletrólitos de concentração maior (10^{-3} g/mL) possuem maior tamanho do que

partículas formadas por polieletrólitos de menor concentração (10^{-4} g/mL), independente da ordem de adição e da massa molar da quitosana.

A comparação entre os tamanhos de partículas de CHQTb e QTbCH é mostrada na Figura 47 e na Figura 48, respectivamente.

Figura 45 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTa de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL (**P<0,05)

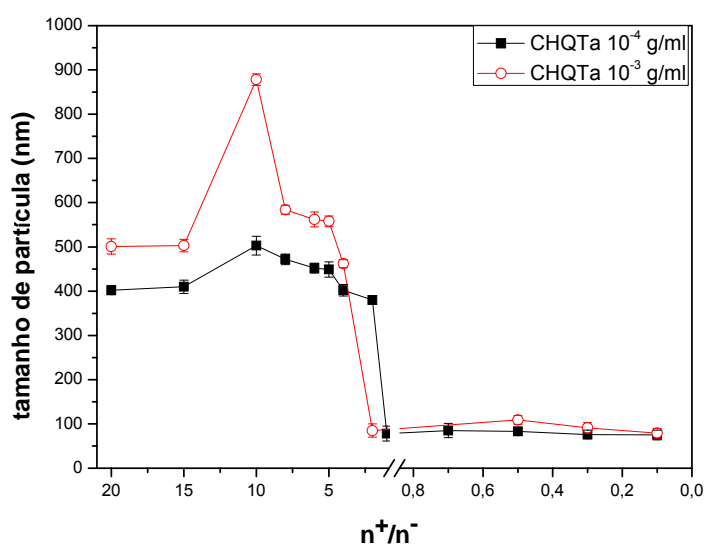


Figura 46 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTaCH de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL (**P<0,05)

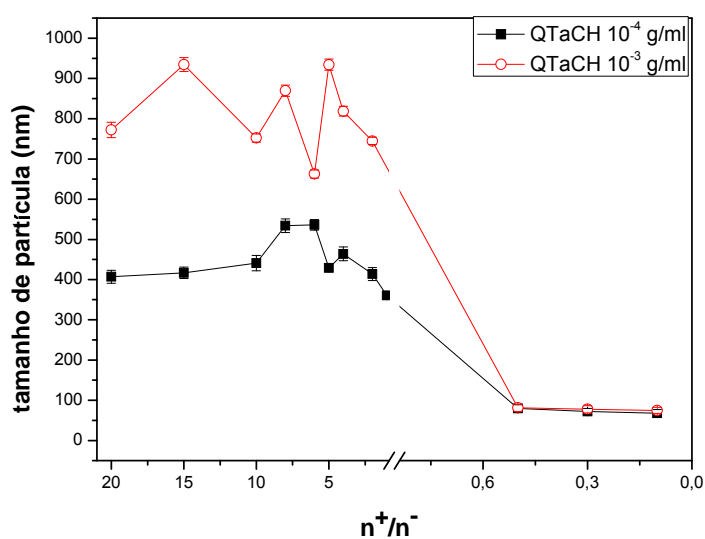


Figura 47 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de CHQTb de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL (***) $P < 0,05$)

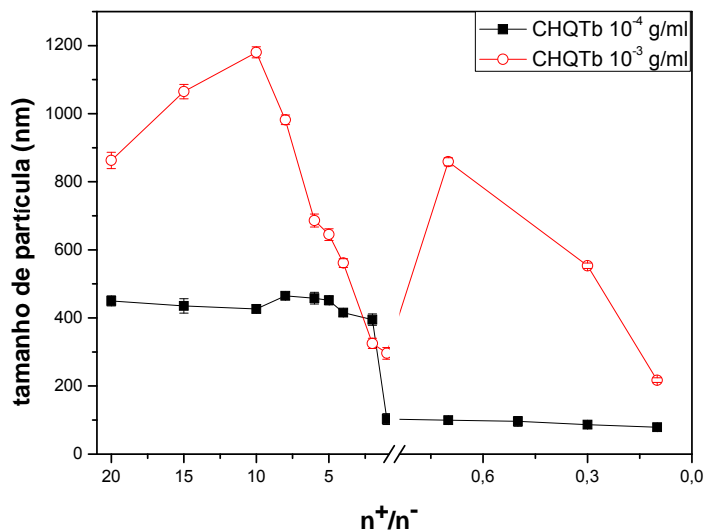
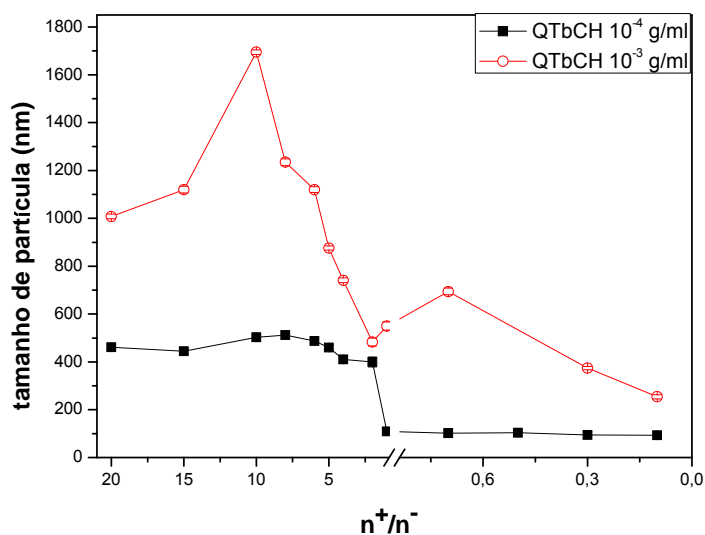


Figura 48 - Tamanho de partícula em função da razão de carga (n^+/n^-) de QTbCH de concentração 10^{-4} g/mL e 10^{-3} g/mL (***) $P < 0,05$)



Com o aumento da concentração das soluções dos polieletrólitos espera-se a formação de partículas de CPE maiores (BUCHHAMMER e col. 2000, BUCHHAMMER e col. 2003, DAUTZENBERG e col., 1996).

Schatz e col. (2004a) investigaram a influência da concentração e a ordem de adição de polieletrólitos, quitosana (QT) e sulfato de dextrana (SD), no

tamanho das nanopartículas. Os autores utilizaram quitosana de concentração 10^{-3} g/mL e SD de concentrações 5×10^{-4} , 10^{-3} e 5×10^{-3} g/ml. Os resultados mostraram que com o aumento da concentração de SD ocorria um aumento no tamanho das partículas, porém a ordem de adição não alterou o tamanho das partículas. Os autores também estudaram o efeito da concentração da quitosana e a ordem de adição, utilizaram DS de concentração 10^{-4} g/mL e QT de concentrações 5×10^{-4} , 10^{-3} e 5×10^{-3} , 10^{-2} g/mL. Eles verificaram que com o aumento da concentração da quitosana houve um aumento do tamanho da maioria das partículas, porém novamente a ordem de adição dos polieletrólitos praticamente não alterou o tamanho.

Schatz e col. (2004b) também estudaram o efeito da concentração do sulfato de dextrana em nanopartículas de QT e SD. Eles observaram que quando aumentavam a concentração do sulfato de dextrana ocorria um aumento do diâmetro hidrodinâmico das partículas. Entretanto, quando testando a influência da concentração da quitosana, observaram que com o aumento da concentração da quitosana ocorria a diminuição do tamanho das partículas.

Nanopartículas de quitosana e TPP foram sintetizadas por Fan e col. (2011), os autores verificaram que quando diminuía a razão de QT/TPP ocorria uma diminuição dos tamanhos das nanopartículas. Em nanopartículas sulfobutileter- β -ciclodextrina e quitosana sintetizadas por Mahmoud e col. (2011) ocorria um aumento do tamanho das nanopartículas quando aumentava-se a concentração dos polímeros.

4.2.3.4 Efeito do Volume no Tamanho das Nanopartículas

Com o intuito de estudar o efeito do volume de solução dos polieletrólitos adicionados na preparação das nanopartículas foram preparadas nanopartículas de duas maneiras: a primeira com concentração constante (10^{-4} g/mL) dos polieletrólitos e adicionados volumes variados de modo a resultar nas razões n^+/n^- desejadas, e a segunda variou-se a concentração das soluções dos polieletrólitos de modo que todas as razões n^+/n^- resultassem sempre no mesmo volume (20 ml). A Tabela 16 mostra os valores de tamanho de partícula variando-se a razão de cargas positivas e negativas (n^+/n^-) das partículas de CHQTb e QTbCH, onde CHQTbV e QTbCHV são partículas formadas por volumes constantes de soluções de polieletrólitos.

Tabela 16 - Razão de carga (n^+/n^-) e tamanho de partícula de CHQTb, CHQTbV, QTbCH e QTbCHV

Razão n^+/n^-	CHQTb	CHQTbV	QTbCH	QTbCHV
	Tamanho (nm)	Tamanho (nm)	Tamanho (nm)	Tamanho (nm)
20	450 ± 10	460 ± 9	461 ± 10	458 ± 6
10	426 ± 15	432 ± 15	503 ± 8	498 ± 9
5	452 ± 8	450 ± 9	460 ± 8	465 ± 10
1	103 ± 6	100 ± 8	109 ± 14	100 ± 5
0,5	96 ± 18	102 ± 9	104 ± 12	98 ± 10
0,1	79 ± 10	81 ± 8	93 ± 8	96 ± 15

A Tabela 17 mostra os valores de tamanho de partícula variando-se a razão de cargas positivas e negativas (n^+/n^-) das partículas de CHQTa e QTaCH, onde CHQTaV e QTaCHV são partículas formadas por volumes constantes de soluções de polieletrólitos.

Tabela 17 - Razão de carga (n^+/n^-) e tamanho de partícula de CHQTa, CHQTaV, QTaCH e QTaCHV

Razão n^+/n^-	CHQTa	CHQTaV	QTaCH	QTaCHV
	Tamanho (nm)	Tamanho (nm)	Tamanho (nm)	Tamanho (nm)
20	402 ± 15	407 ± 10	407 ± 10	400 ± 10
10	503 ± 10	510 ± 15	441 ± 5	450 ± 15
5	449 ± 18	440 ± 14	429 ± 15	425 ± 14
1	78 ± 5	82 ± 9	361 ± 9	370 ± 10
0,5	83 ± 8	80 ± 10	80 ± 10	85 ± 8
0,1	75 ± 10	69 ± 9	68 ± 10	71 ± 2

Verifica-se que para todas as amostras e razões a mudança na metodologia de preparo das amostras praticamente não altera o tamanho das partículas formadas por complexação polieletrólítica.

4.2.4 Estabilidade das nanopartículas

A estabilidade da nanopartículas em solução foi estudada para verificar o comportamento dessas durante 30 dias na temperatura ambiente. A Figura 49 mostra o gráfico de tamanho de partículas x dias das amostras de CHQTa de concentração 10^{-4} g/mL, enquanto que a Figura 50 mostra os gráficos da estabilidade das amostras de QTaCH de concentração 10^{-4} g/mL.

Pode-se verificar que para todas as amostras ocorreu um aumento de tamanho, indicando agregação, porém, as amostras com menor razão n^+/n^- mostraram-se mais estáveis, indicando que o excesso de chichá contribui para o aumento da estabilidade das partículas. Em algumas amostras ocorre a diminuição do tamanho posteriormente ao aumento, isto pode indicar uma possível floculação do CPE.

Figura 49 - Estudo da estabilidade dos complexos de CHQTa 10^{-4} g/mL de razão n^+/n^- (a) 20, 10, 8, 4 e (b) 2, 0,7 e 0,5 e 0,1 (***) $P < 0,05$)

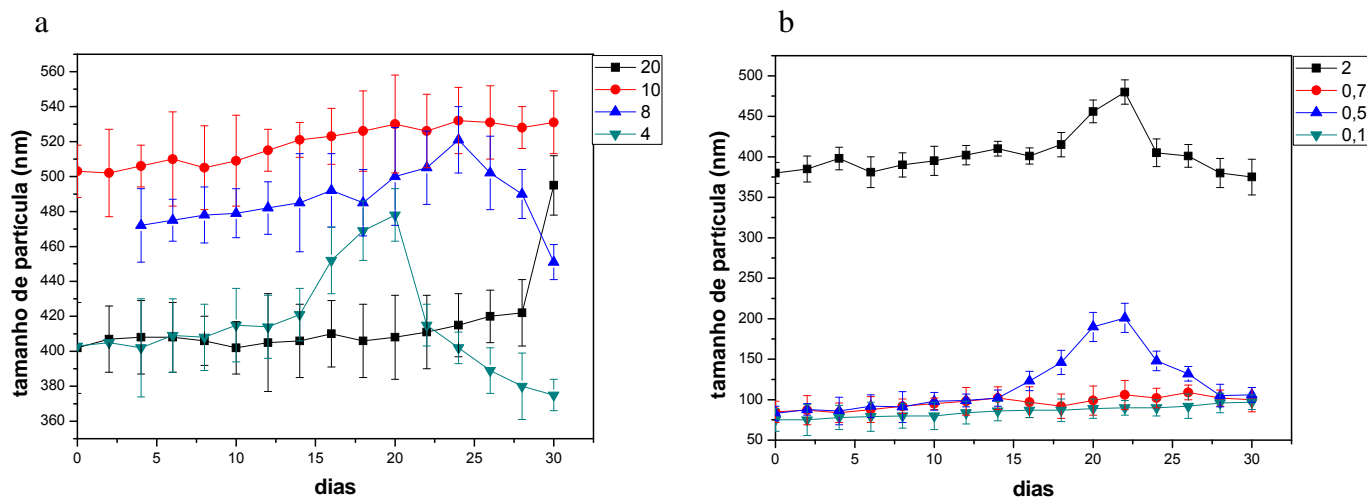
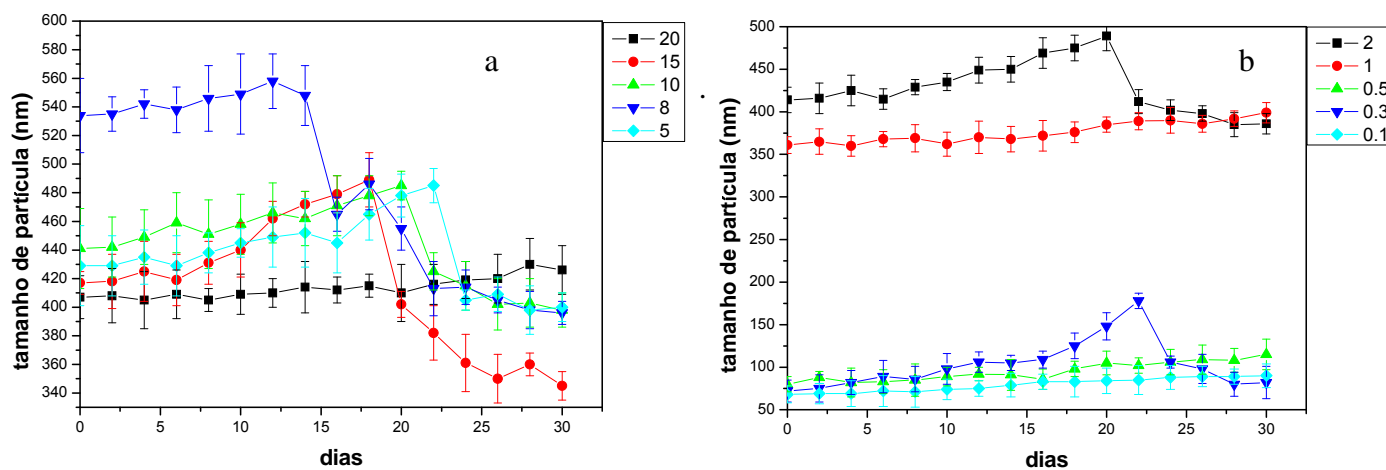


Figura 50 - Estudo da estabilidade dos complexos de QTaCH 10^{-4} g/mL de razão n^+/n^- (a) 20, 15, 10, 8, 5 e (b) 2, 1, 0,5, 0,3 e 0,1 (** $P < 0,05$)



Comportamento semelhante foi encontrado no estudo de estabilidade das partículas de CHQTb (FIGURA 51) e QTbCH (FIGURA 52).

Figura 51 - Estudo da estabilidade dos complexos de CHQTb 10^{-4} g/mL em diferentes razões de carga (** $P < 0,05$)

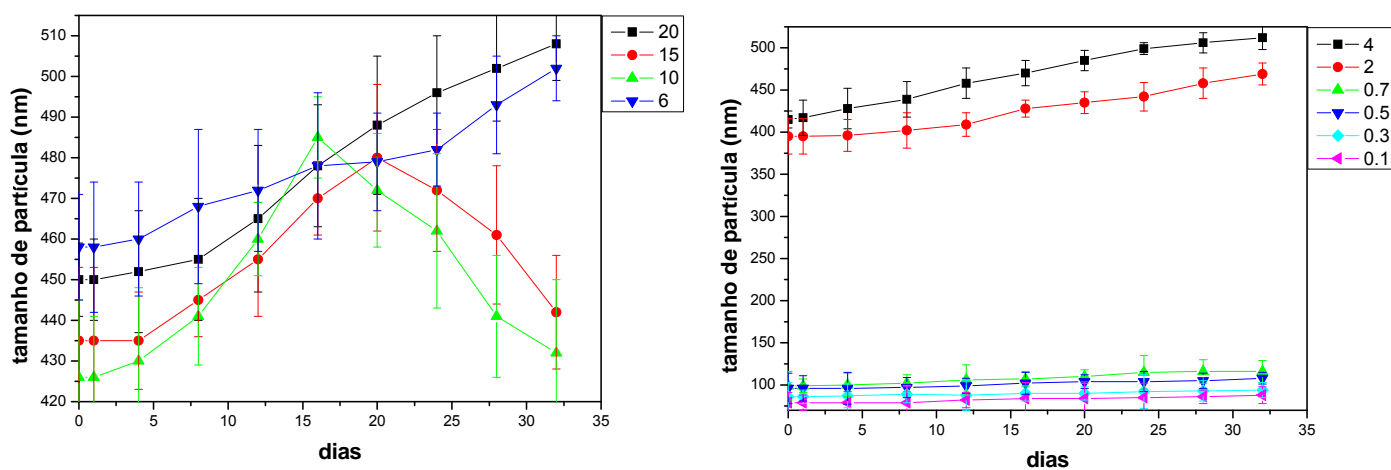
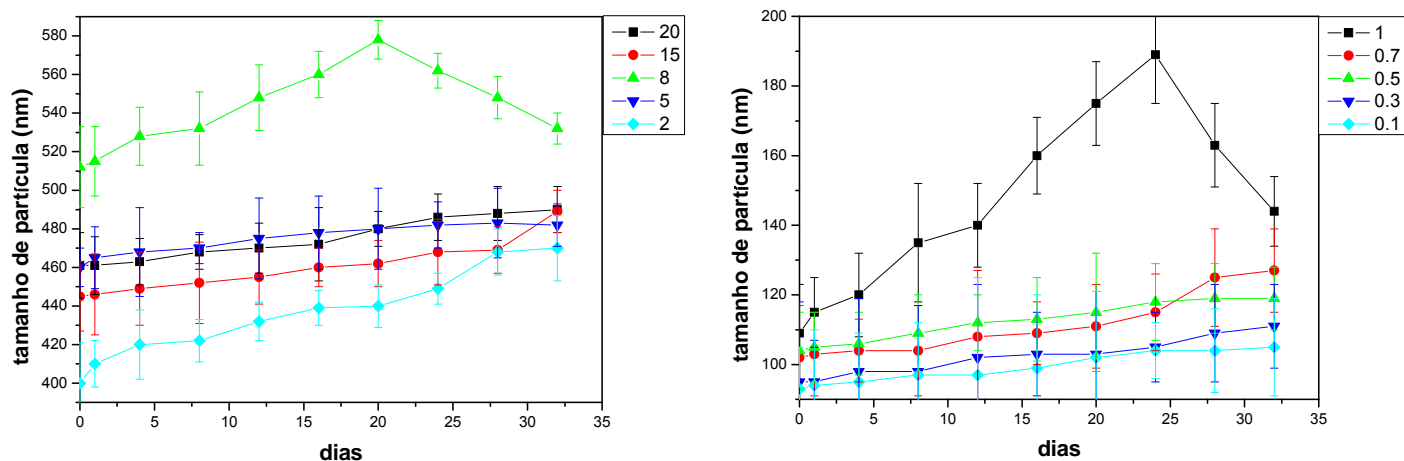


Figura 52 - Estudo da estabilidade dos complexos de QTbCH 10^{-4} g/mL em diferentes razões de carga (***) $P < 0,05$)



Silva e col. (2008) realizaram o estudo da estabilidade de nanopartículas de goma do cajueiro (GC) e ácido acrílico (AA), monitorando o tamanho de partícula em solução durante 30 dias. Os resultados mostraram que a agregação aumenta com o aumento da razão molar de GC/AA. Amostra de razão 2,0 apresentou maior variação no tamanho de partícula.

Oliveira e col., (2008) sintetizaram nanopartículas de quitosana (QT) e goma do angico (GA). Partículas com razão n^+/n^- igual a 1 foi monitorada durante 26 dias. Um discreto decréscimo no tamanho de partícula foi observado nos primeiros cinco dias seguido por uma estabilização no tamanho.

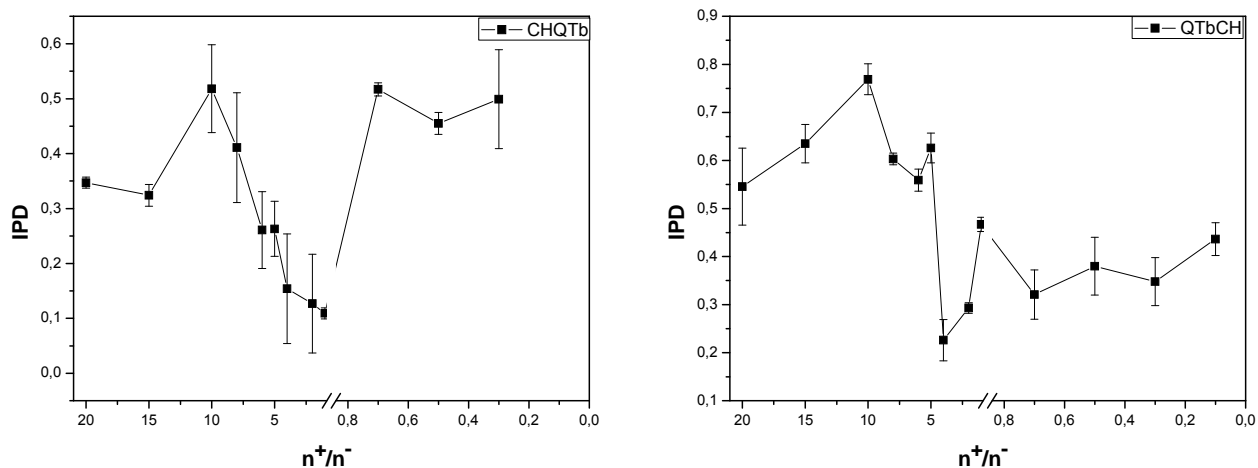
Oyarzun-Ampueroa e col. (2009) estudaram a estabilidade de nanopartículas de quitosana, ácido hialurônico e TPP a 37°C durante 24 h em diferentes meios: solução de Hanks salina balanceada (HBSS) em pH 6,4 e 7,4, e fosfato salina tamponada (PBS), pH 7,4. Os autores observaram que em HBSS (pH 6,4) as nanopartículas agregavam imediatamente e que a estabilidade foi maior em PBS de pH 7,4 do que em HBSS de pH 7,4. Os autores explicam que a diferença do comportamento da estabilidade pode estar relacionada a diferenças na composição destes meios (HBSS contém CO_3^{2-} e uma concentração de íons de PO_4^{2-} oito vezes menor do que em PBS). Isso pode afetar diretamente a camada de hidratação dos contra-íons localizada na superfície das nanopartículas, bem como a estrutura da água em torno dos sistemas. Em PBS estes efeitos

parecem resultar em um aumento das forças repulsivas de hidratação e portanto uma maior estabilidade da nanopartículas.

4.2.5 Índice de polidispersividade

Na Figura 53 pode-se observar os índices de polidispersividade (IPD) para as partículas formadas por CH gotejada em QTb (CHQTb) e QTb gotejada em CH (QTbCH) com concentração de 10^{-3} g/mL.

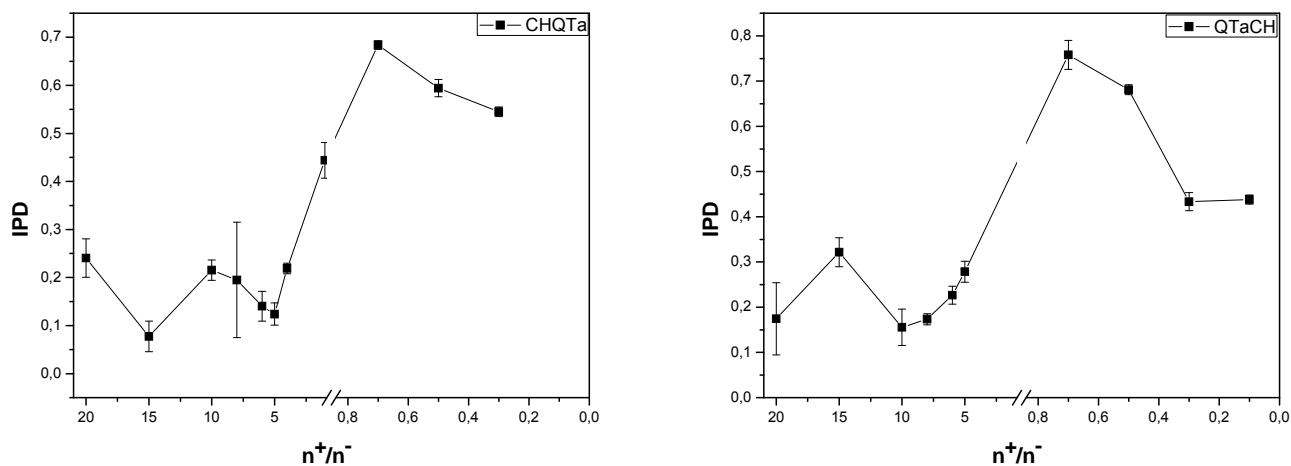
Figura 53 - Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTb e QTbCH para concentração de 10^{-3} g/mL



Quanto menor o tamanho de partícula menor o índice de polidispersividade (IPD). Comportamento semelhante foi encontrado por Shartz e col. (2004a) e Shatz e col. (2004b) onde os autores sintetizaram nanopartículas de quitosana e sulfato de dextrana, quanto menor o tamanho da partícula ocorria um discreto decréscimo da polidispersividade das amostras.

A Figura 54 mostra o tamanho e o índice de polidispersividade das partículas formadas por CH gotejada em QTa (CHQTa) e QTa gotejada em CH (QTaCH) de concentração 10^{-3} g/mL.

Figura 54 - Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTa e QTaCH para concentração de 10^{-3} g/mL



O comportamento do índice de polidispersividade foi inverso ao verificado para partículas de CHQTb de concentração 10^{-3} g/mL, isto é, quanto menor o tamanho de partícula maior a polidispersividade das amostras. Isto evidencia que a massa molar da quitosana influencia na polidispersividade da amostra.

Na Figura 55 pode-se observar que para partículas de CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-4} g/mL, o comportamento do índice de polidispersividade foi semelhante aos das partículas de CHQTa e QTaCH de concentração 10^{-3} g/mL, isto é, quanto menor tamanho de partícula maior a polidispersividade. Evidenciando que a concentração dos complexos polieletrólíticos não altera o comportamento das nanopartículas em relação à polidispersividade.

Figura 55 - Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTa e QTaCH para concentração de 10^{-4} g/mL

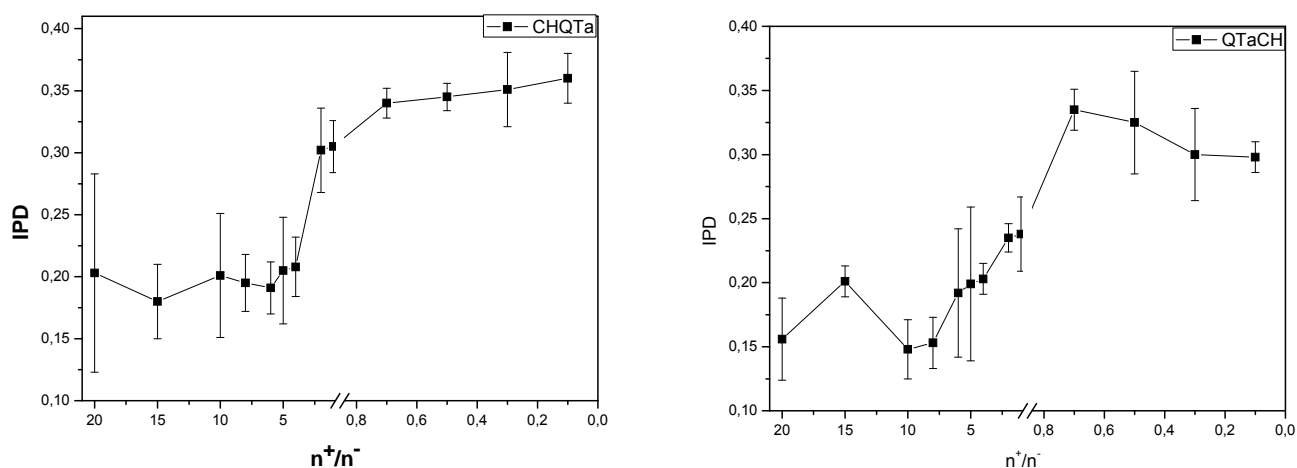
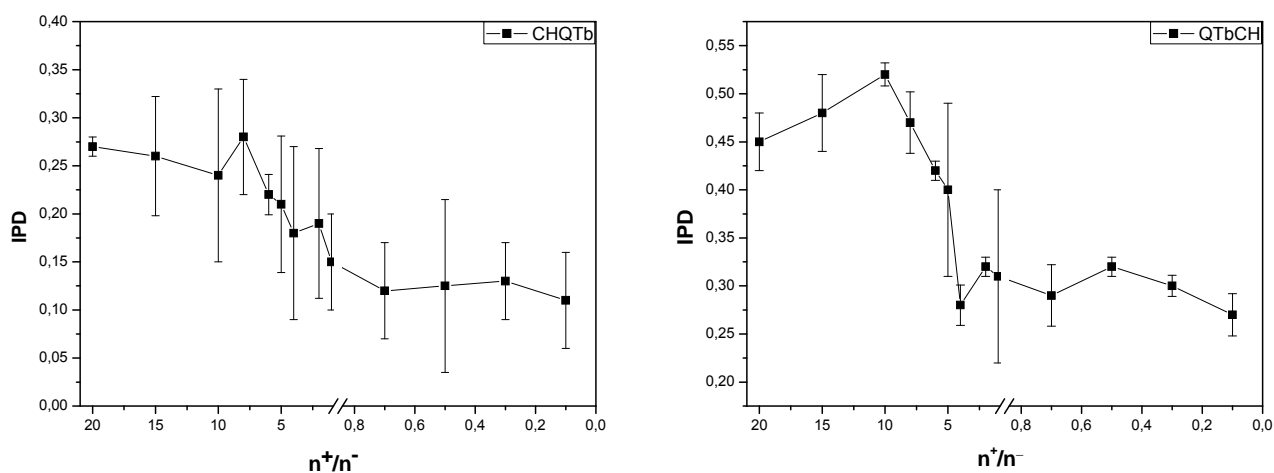


Figura 56 mostra o tamanho e o índice de polidispersividade das partículas formadas por CHQTb e QTbCH de concentração de 10^{-4} g/ml. Verifica-se que quando o tamanho da nanopartículas diminui, o índice de polidispersividade também diminui.

Figura 56 - Gráfico de IPD em função da razão de cargas (n^+/n^-) para CHQTb e QTbCH para concentração de 10^{-4} g/mL



Jintapatanakit e col. (2007) na síntese de complexos polieletrólitos de trimetilquitosana e insulina mostraram resultados que com a diminuição do tamanho de partícula ocorria um aumento na polidispersividade, o que os autores justificam pela eficiência da associação da insulina no complexo polieletrólítico, quanto maior a eficiência de associação da insulina menor o índice de polidispersividade.

4.2.6 Liberação de Cloroquina

A Tabela 18 mostra a eficiência de incorporação das nanopartículas. A ordem de adição dos polieletrólitos não interferiu na eficiência de incorporação da cloroquina pelas nanopartículas ($P > 0,05$), porém quanto menor a razão n^+/n^- maior a porcentagem de incorporação, isto pode ser explicado devido o fármaco estar na forma de sal, difosfato de cloroquina, adquirindo carga positiva e tendo uma maior interação com partículas formadas com maior razão de chichá que é um poliânion.

Tabela 18 - Eficiência de incorporação

Razão	Amostra	Incorporação (%)
5	QTaCH	50,2 ± 0,72
	CHQTa	51,2 ± 0,85
	QTbCH	49,1 ± 1,85
	CHQTb	50,8 ± 1,50
0,1	QTaCH	59,5 ± 0,62
	CHQTa	58,9 ± 1,64
	QTbCH	58,2 ± 0,95
	CHQTb	57,9 ± 0,78

Sarmiento e col. (2006) desenvolveram nanopartículas de quitosana e sulfato de dextrana (SD) para liberação de insulina. Verificou-se que quanto menor a razão em massa de QT/SD maior era a eficiência de incorporação, os autores justificam esse aumento da eficiência com a diminuição da razão QT/DS devido à interação eletrostática entre as cargas positivas da insulina e as cargas negativas do SD. Os autores encontraram valores de porcentagem de incorporação que variavam de 48,6% a 96,4% dependendo da concentração dos polieletrólitos, da razão dos polieletrólitos, da razão de insulina e polímeros e do pH final da solução das nanopartículas.

Oyarzun-Ampueroa e col. (2009) conseguiram uma eficiência de incorporação de heparina em nanopartículas de quitosana, ácido hialurônico e TPP de até 72,3%. Tsai e col. (2011) conseguiram eficiência de encapsulação de doxorubicina em nanopartículas de sulfato de condroitina e quitosana, que variava de 70% a 85%.

Yeh e col., (2011) sintetizaram nanopartículas de sulfato de condroitina e quitosana para liberação de BSA, os resultados mostraram uma variação na incorporação da proteína de 10% a 60% dependendo da concentração da solução de BSA. Quanto maior a concentração maior a incorporação da proteína nas nanopartículas.

A Tabela 19 mostra o tamanho das partículas sem fármaco e com fármaco incorporado, pode-se verificar que ocorreu um aumento de todas as partículas após a incorporação do fármaco.

Tabela 19 - Tamanho de partícula sem e com cloroquina

Razão	Amostras	Tamanho (nm)	
		Sem cloroquina	Com cloroquina
5	QTaCH	429 ± 7,8	510 ± 8,9
	CHQTa	428 ± 8,9	449 ± 9,5
	QTbCH	460 ± 8,5	530 ± 9,4
	CHQTb	432 ± 6,2	450 ± 8,8
0,1	QTaCH	68 ± 7,0	152 ± 8,2
	CHQTa	75 ± 8,7	160 ± 7,0
	QTbCH	93 ± 10,8	160 ± 8,6
	CHQTb	79 ± 6,1	163 ± 6,2

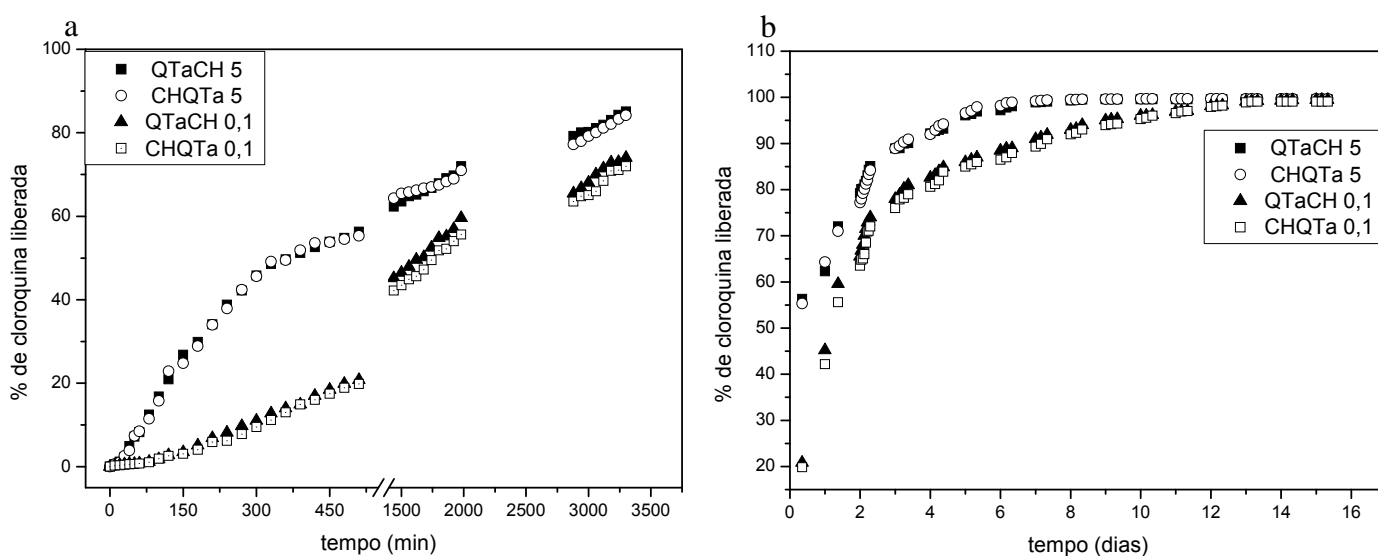
Gan e Wang (2007) sintetizaram nanopartículas de quitosana para liberação de BSA. Os autores observaram que independente da concentração da solução de quitosana, ocorria um aumento do tamanho das nanopartículas com BSA incorporado.

Mahmoud e col. (2011) verificaram que na incorporação de nitrato de Econazole, um fármaco ocular, em nanopartículas de quitosana e sulfobutileter- β -ciclodextrina, ocorria um aumento de tamanho na maioria das nanopartículas.

A Figura 57 mostra a porcentagem de liberação de cloroquina em tampão 7,4 a 37°C a partir de nanopartículas formadas por QTa e CH nas razões n^+/n^- 5 e 0,1. A Figura 33a mostra a liberação nas primeiras 55 horas e a Figura 33b mostra a liberação em dias. Para as nanopartículas de razão n^+/n^- 5 a liberação é mais rápida do que em nanopartículas de razão n^+/n^- 0,1, e que a ordem de adição dos polieletrólitos praticamente não afeta a porcentagem de fármaco liberada. As nanopartículas de QTaCH 5 e CHQTa 5 mostram uma liberação rápida (efeito “burst”), cerca de 60%, nas primeiras 8 horas; enquanto que nanopartículas de QTaCH 0,1 e CHQTa 0,1 o efeito “burst” ocorre nas primeiras 33 horas. A liberação

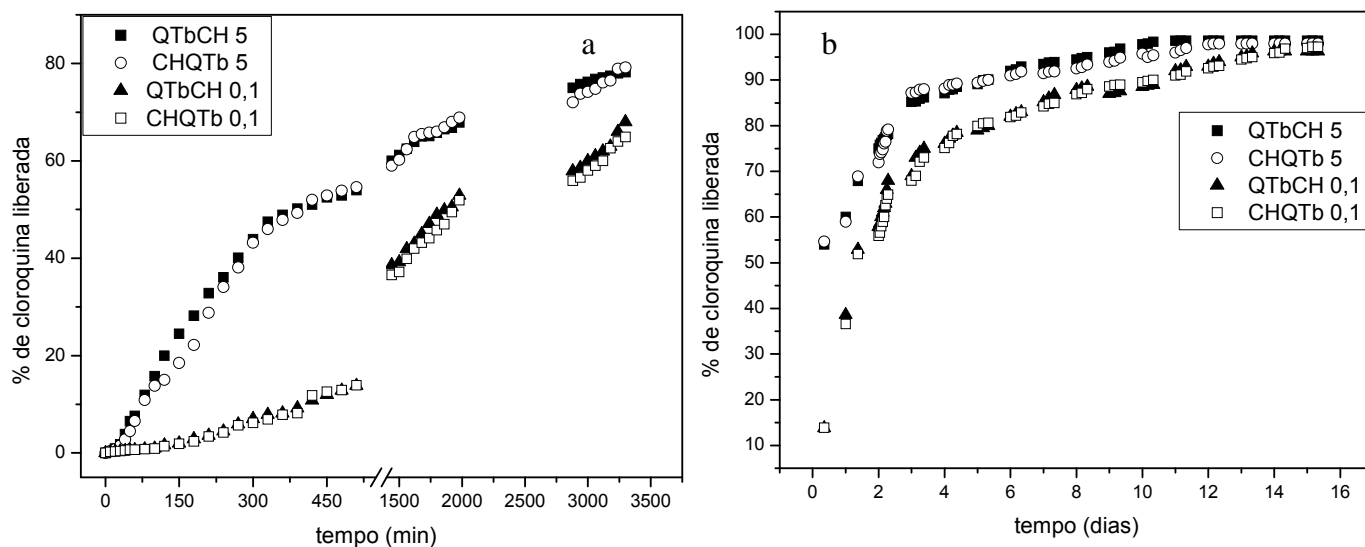
mais lenta para partículas de razão n^+/n^- 0,1, que possui maior número de mols de CH, pode ser explicada pela maior interação do fármaco catiônico com a goma do chichá que é aniônica, dificultando a liberação do fármaco para o meio, diminuindo a cinética de liberação.

Figura 57 - Liberação de cloroquina a partir de nanopartículas de QTaCH 5, CHQTa 5, QTaCH 0,1 e CHQTa 0,1 a 37 °C. (a) tempo nas primeiras 55 horas e (b) tempo em dias



A Figura 58 mostra a liberação de cloroquina em tampão 7,4 a 37°C a partir de nanopartículas formadas por QTb e CH nas razões n^+/n^- 5 e 0,1. O comportamento de liberação das partículas de CH e QTb foi semelhante ao das partículas de QTa e CH, isto é, a ordem de adição praticamente não altera a liberação e quanto menor a razão n^+/n^- mais lenta é a liberação. A mudança na razão de cargas mostrou diferença significativa ($P < 0,05$) para ambas quitosanas na liberação de cloroquina.

Figura 58 - Liberação de cloroquina a partir de nanopartículas de QTbCH 5, CHQTb 5, QTbCH 0,1 e CHQTb 0,1 a 37 °C. (a) tempo nas primeiras 55 horas e (b) tempo em dias



Resultado semelhante foi encontrado em nanopartículas de quitosana e sulfato de dextrana (SARMENTO e col. 2006) para liberação de insulina, onde, com a diminuição da razão de quitosana e sulfato de dextrana ocorre uma diminuição da porcentagem de insulina liberada para o meio, levando uma cinética de liberação mais lenta.

Tsai e col. (2011) fizeram liberação de doxorubicina em tampão pH=7,4 a partir de nanopartículas de sulfato de condroitina e quitosana formada por complexação polieletrólítica, e verificou-se que em 6000 minutos menos de 40% do fármaco tinha sido liberado.

Epigallocatequina galato (EGCG), um polifenol natural com potencial anticancer, foi liberado a partir de nanopartículas de gelatina recobertas com polieletrólitos (Schutava e col., 2009). Os resultados mostraram que em nanopartículas de gelatina não recobertas com polieletrólitos cerca de 95% de EGCG foram liberados em 3h e em nanopartículas de gelatina recobertas com hidrocloreto de polialilamina e sulfonato de poliestireno a liberação durou 8h.

A Tabela 20 mostra os valores dos expoentes de difusão (n) para as liberações das amostras de nanopartículas. Verifica-se que todas as liberações são

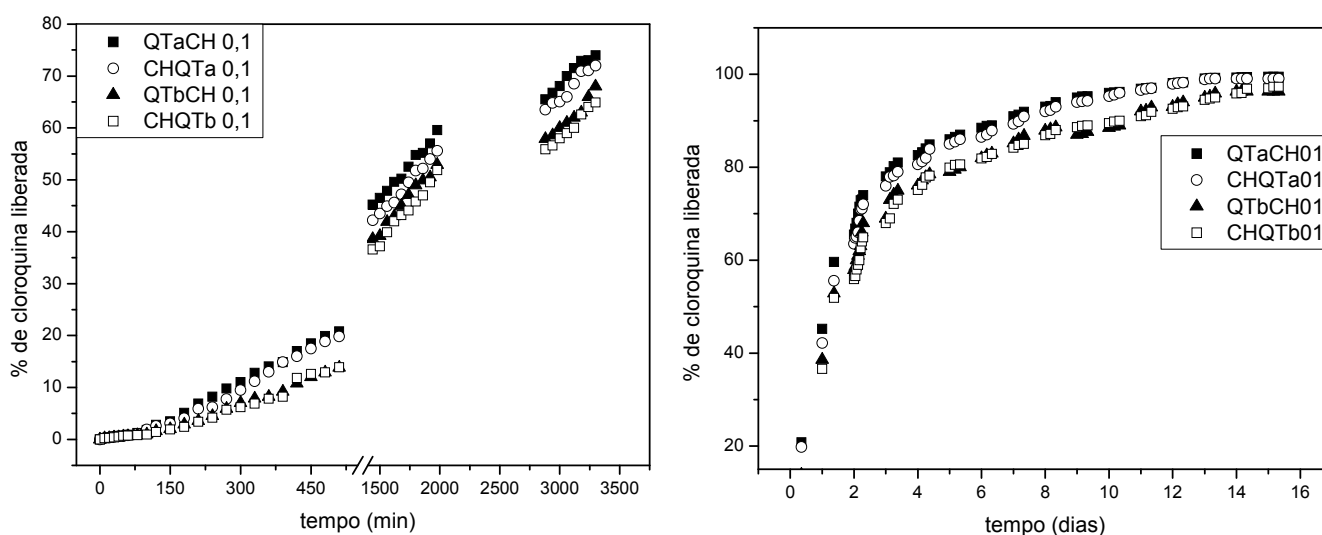
do tipo de transporte não Fickiano, isto é, a velocidade de relaxação da cadeia polimérica é equivalente a velocidade de difusão.

Tabela 20 - Valores dos expoentes de difusão (n)

Amostras	Valor de n	Amostras	Valor de n
QTaCH 5	0,829	QTbCH 5	0,513
CHQTa 5	0,826	CHQTb 5	0,516
QTaCH 0,1	0,750	QTbCH 0,1	0,846
CHQTa 0,1	0,770	CHQTb 0,1	0,820

A Figura 59 apresenta o estudo comparativo entre o comportamento de liberação das nanopartículas de QTa e QTb de razão n^+/n^- 0,1 em tampão 7,4 a 37°C. Mudando-se a ordem de adição e mantida a razão constante, não houve mudança significativa na liberação da cloroquina ($P>0,05$), tanto para partículas de razão 5 como para de razão 0,1, mostrando que a ordem de adição não interfere no comportamento da liberação do fármaco.

Figura 59 - Liberação de cloroquina a partir de nanopartículas de QTaCH 0,1, CHQTa 0,1, QTbCH 0,1 e CHQTb 0,1 a 37 °C



Nanopartículas de quitosana para liberação de BSA sintetizadas por Gan e Wang (2007) mostraram comportamento semelhante, isto é, quanto menor o tamanho, mais rápida era a porcentagem de fármaco liberada.

Qi e col. (2010) estudaram a liberação de doxorubicina a partir de nanopartículas de BSA-dextrana-quitosana formada por complexação polieletrólítica. O estudo mostrou que em 25 h menos de 20% do fármaco tinha sido liberado em tampão fosfato pH 7,4.

BSA foi utilizado para liberação *in vitro* a partir de nanopartículas de QT, PEG e APA (SHU e col., 2009). Os resultados mostraram que em solução tampão com pH 7,4 aproximadamente 90% do BSA foi liberado em 20 h.

4.3 Formação de Nanopartículas de Quitosana e Goma do Chichá Oxidada Via Formação da Base de Schiff

4.3.1 Goma do Chichá Oxidada

Pela Equação 6 verifica-se que 99,93% (mol) dos íons periodato foram consumidos na reação de razão 10:4 e 99,72% na reação de razão 10:8, portanto esta possui maior porcentagem de grupos aldeídos em sua estrutura.

Na oxidação da goma do cajueiro, Moura Neto (2008) encontrou valores de porcentagem de periodato de sódio consumida na reação que variavam de 99,0% a 99,9%.

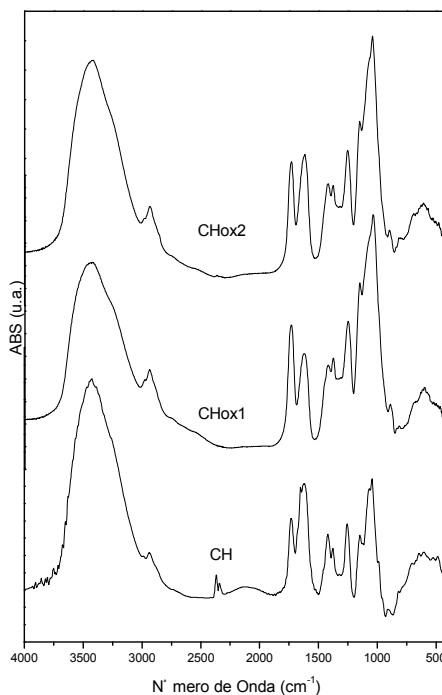
Dawlee e col. (2005) oxidaram sulfato de condroitina (SC) com periodato de sódio. Os autores utilizaram diferentes quantidades de periodato em relação ao SC e quando ocorria o aumento da quantidade de periodato de sódio ocorria um aumento da porcentagem de oxidação, porém, ocorria uma diminuição no rendimento da reação.

Na oxidação do alginato de sódio com periodato de sódio, Gómez e col. (2007) encontraram valores que variavam de 98 a 90% de periodato de sódio consumida durante a oxidação quando se aumentava a porcentagem de periodato adicionada.

Gao e col. (2009) oxidaram alginato de sódio para a preparação de hidrogeis. A razão de periodato de sódio e o número de unidades repetitivas do alginato foram variados para obter-se diferentes graus de oxidação. Com o aumento da quantidade de periodato o grau de oxidação também aumentou, variando de 9,6% a 47,88%.

Os espectros na região do infravermelho da goma do chichá e da goma do chichá oxidado 10:4 e 10:8 é mostrado na Figura 60.

Figura 60 - Espectro na região do infravermelho do CH, CHox1 e CHox2



Verifica-se um aumento da razão entre as alturas das bandas em 1730 cm⁻¹, referente a deformação axial de C=O de aldeído, e em 1623 cm⁻¹ referente a deformação axial assimétrica de COO⁻, indicando que houve um aumento de C=O de aldeído referente à oxidação da goma do chichá.

A Tabela 21 mostra os valores das massas molares para a goma do chichá e os derivados da oxidação obtidos a partir de cromatografia de permeação em gel. A diminuição da massa molar dos derivados oxidados ocorre por causa da quebra da cadeia principal do polissacarídeo ocasionado pela oxidação.

Tabela 21 - Massas molares do chichá e dos derivados oxidados

Amostra	Massa Molar (g/mol)
CH	$2,5 \times 10^7$
CHox1	$6,8 \times 10^4$
CHox2	$2,5 \times 10^4$

Brito (2000) encontrou valor de $2,82 \times 10^7$ g/mol para a goma do chichá obtida por GPC.

A Figura 61 mostra as curvas termogravimétricas para amostras de CH e CHox1. De um modo geral, a decomposição de polissacarídeos inicia-se em temperaturas superiores a 200°C. O primeiro refere-se à perda de água; as temperaturas dos eventos são mostradas na Tabela 22. A diminuição da porcentagem residual na CHox indica uma diminuição da estabilidade térmica da amostra, essa diferença de comportamento para os derivados oxidados pode ser atribuída à facilitação no processo de decomposição em atmosfera oxidativa devido aos grupos aldeídos que são mais reativos.

Figura 61 - Curva de TGA para a CH e CHox1 em atmosfera de ar sintético

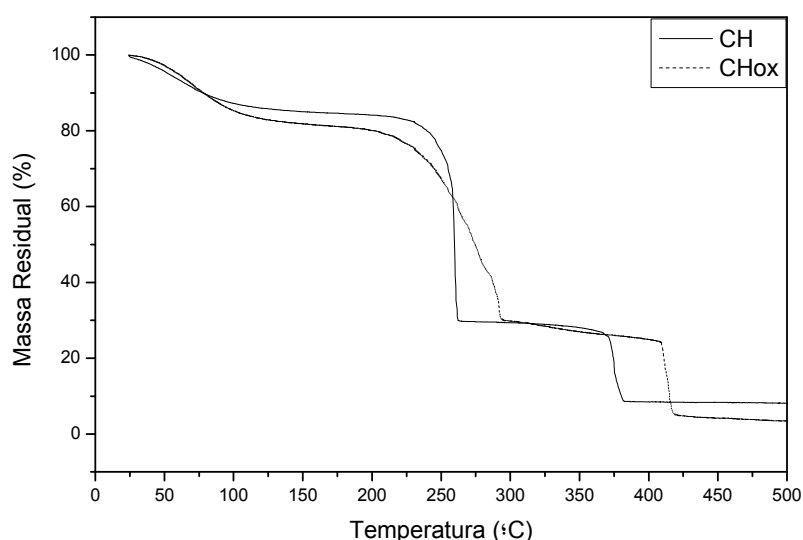


Tabela 22 - Parâmetros obtidos do TGA para a GC e derivado oxidado em atmosfera de ar sintético

Amostra	Temperatura Máxima do Evento (°C)			Massa Residual em 500°C
	1	2	3	
CH	55	292	412	8,1
CHox1	54	271	386	3,4

Resultado semelhante foi encontrado por Moura Neto (2008) com a goma do cajueiro oxidada, onde os derivados oxidados obtidos apresentavam uma diminuição na temperatura máxima do evento e diminuição da porcentagem do resíduo final, assim como a goma do cajueiro oxidada por Maciel (2005) em diferentes razões molares de goma/periodato (0,7/1 – 10/1) mostrou que todos os derivados são menos estáveis que a goma do cajueiro nativo, indicando que a oxidação diminui a estabilidade térmica no início do processo de degradação, devido à labilidade dos grupos aldeídos.

4.3.2 Nanopartículas de Quitosana e Chichá Oxidado (CHox1)

4.3.2.1 Potencial Zeta

A Tabela 23 mostra os potenciais zeta das amostras de QTaCHox1, CHox1QTa, QTbCHox1 e CHox1QTb. Observa-se que quando a razão entre CHox1 e QTa é de 10:1 o potencial torna-se negativo e as amostras de QTa gotejada em CHox1 (QTaCHox) têm potenciais menores, em módulo, do que CHox1 gotejada em QTa (CHox1QTa), mostrando que a ordem de adição também influencia no potencial zeta.

Para potenciais zeta das amostras de QTbCHox1 e CHox1QTb foram encontrado comportamento semelhante as nanopartículas de QTa e CHox1, isto é, quando a razão entre CHox1 e QTb é de 10:1 o potencial torna-se negativo e as amostras de QTb gotejada em CHox1 (QTbCHox) têm potenciais menores, em módulo, do que CHox1 gotejada em QTb (CHox1QTa), evidenciando que a ordem de adição também influencia no potencial zeta das amostras obtidas utilizando QTb.

Amostras com potenciais zeta positivos indicam que a quitosana está na superfície da nanopartícula, enquanto que potenciais negativos indicam que o chichá oxidado está na superfície.

Na comparação entre os valores do potencial zeta entre as amostras de QTaCHox1 e QTbCHox1 na mesma proporção e na mesma ordem de gotejamento os resultados mostram que amostras formadas por QTa possuem potencial menor em módulo do que amostras formadas por QTb. QTa possui maior massa molar do que QTb, com isso deve ocorrer maior número de interações entre essa quitosana e o chichá oxidado, havendo maior formação de bases de Schiff, com isso menor quantidades de grupos $-NH_2$ livres, ocasionando uma diminuição no potencial zeta na superfície da amostra.

Tabela 23 - Potencial Zeta das amostras de QTbCHox1, QTaCHox1, CHox1QTb e CHox1QTa (**P<0,05)

Amostra (razão)	Potencial Zeta (mV)	Amostra (razão)	Potencial Zeta (mV)
QTbCHox1 (10:1)	+8,6 ± 0,2	QTaCHox1 (10:1)	+5,0 ± 1,5
QTbCHox1 (1:1)	+10,3 ± 0,8	QTaCHox1 (1:1)	+6,3 ± 1,2
QTbCHox1 (1:10)	-14,0 ± 2,4	QTaCHox1 (1:10)	-11,8 ± 1,0
CHox1QTb (1:10)	+8,9 ± 0,4	CHox1QTa (1:10)	+5,7 ± 1,1
CHox1QTb (1:1)	+10,5 ± 0,6	CHox1QTa (1:1)	+10,8 ± 1,7
CHox1QTb (10:1)	-17,4 ± 0,2	CHox1QTa (10:1)	-14,0 ± 0,6

Du e col. (2010) verificaram que nanopartículas de quitosana reticuladas com glutaraldeído (GL) tinham potencial zeta em torno de 20 mV e que o aumento na razão GL/QT ocorria uma diminuição do potencial de 23 mV para 18 mV devido a redução do número de grupo amino primário da quitosana e que a massa molar da quitosana não altera o potencial zeta.

Em nanopartículas de trimetilquitosana conjugada com cisteína (YIN e col., 2009) o potencial zeta variou de 12 mV à 19 mV, e o potencial da superfície das

nanopartículas aumentava com o aumento do grau de substituição da trimetilquitosana.

4.3.2.2 Ordem de Adição

A Tabela 24 mostra o efeito da ordem de gotejamento no tamanho, mantendo-se a mesma concentração para partículas formadas por QTa e CHox1.

Tabela 24 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTa e CHox1 (***P<0,05)

Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)
10:1 (QTaCHox1)	192,0 ± 5,5	1:1 (QTaCHox1)	279,0 ± 14,0	1:10 (QTaCHox1)	170,5 ± 12,0
1:10 (CHox1QTa)	133,7 ± 12,2	1:1 (CHox1QTa)	87,8 ± 15,0	10:1 (CHox1QTa)	177,3 ± 13,0

Verifica-se que para a maioria das amostras, com mesma razão, os menores tamanhos de partículas são obtidos quando se goteja CHox1 em QTa.

A Tabela 25 mostra o efeito da ordem de gotejamento mantendo-se a mesma concentração para partículas formadas por QTb e CHox1.

Tabela 25 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTb e CHox1 (***P<0,05)

Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)
10:1 (QTbCHox1)	91,0 ± 17,7	1:1 (QTbCHox1)	129 ± 15,0	1:10 (QTbCHox1)	78 ± 3,8
1:10 (CHox1QTb)	74,5 ± 6,5	1:1 (CHox1QTb)	55,5 ± 4,0	10:1 (CHox1QTb)	165,5 ± 3,5

Comportamento semelhante foi encontrado às nanopartículas formadas por QTa e CHox1, isto é, as menores partículas são aquelas formadas quando se adiciona CHox1 em QTb, com exceção as partículas formadas por QTb e CHox1 na razão de 1:10. Observa-se que nas partículas de CHox1QTb os menores tamanhos de partículas foram obtidos na razão 1:1 e os maiores tamanhos na razão 10:1, esse comportamento foi semelhante ao encontrado nas nanopartículas de CHox1QTa.

Quando QT está em excesso ocorre uma diminuição do tamanho quando CHox1 é adicionada a QT, o potencial é positivo, mas não muda significativamente.

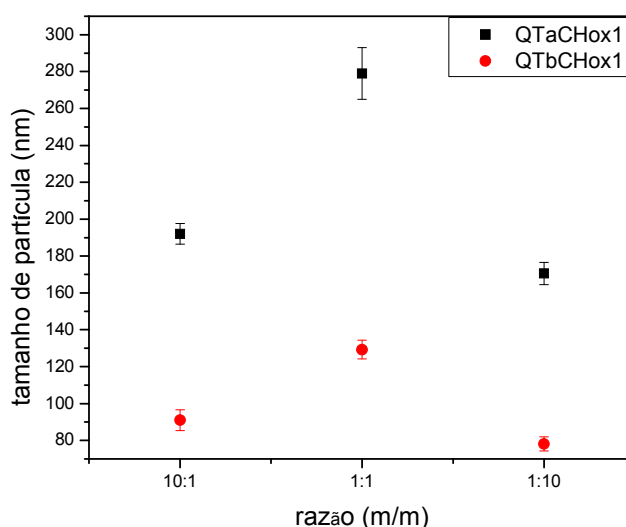
Quando o eletrólito QT (excesso) é adicionado a CHox1 varias cadeias interagem com a mesma cadeia aumentando assim o tamanho da partícula. Fenômeno semelhante acontece quando CHox em excesso é adicionado a QTa e QTb.

Na proporção 1:1 a adição de CHox1 as quitosanas, leva a uma diminuição do tamanho de partícula. Isto pode ser devido a menor massa molar do CHox1 em comparação com QT, o que permite uma maior interação com as cadeias de QT, compactado-as.

4.3.2.3 Influência da massa molar da quitosana no tamanho das nanopartículas

A Figura 62 mostra o tamanho das nanopartículas formadas por QT gotejada em CHox1, para quitosana de diferentes massas molares.

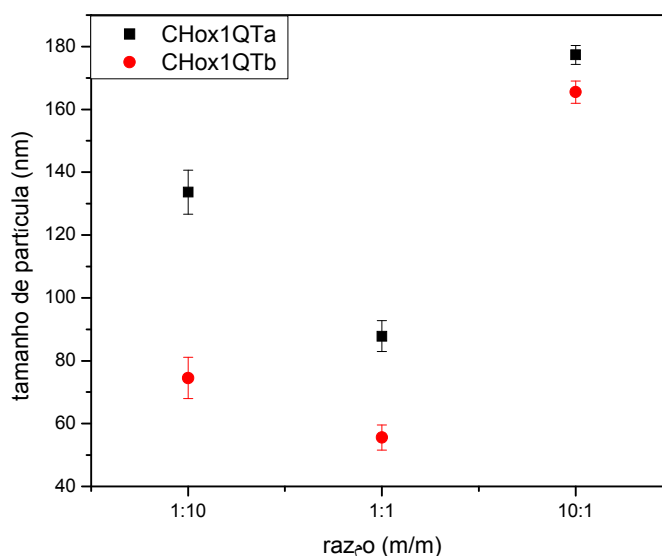
Figura 62 – Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde QT é adicionada a CHox1



As nanopartículas formadas por QTa são maiores do que as nanopartículas formadas por QTb em todas as razões. Esse comportamento também é encontrado nas nanopartículas formadas por CHox1 gotejada em QT (FIGURA 63), isto pode ser explicado pela menor massa molar da QTb e pelo potencial zeta das nanopartículas formadas por QTb serem mais positivos ou mais negativos do que as nanopartículas formadas por QTa, indicando uma maior

estabilidade, com isso uma menor facilidade de agregação e conseqüentemente um menor tamanho de partícula.

Figura 63 - Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde CHox1 é adicionada a QT



Yin e col. (2009) sintetizaram nanopartículas de trimetilquitosana, com diferentes massas molares, conjugada com cisteína para liberação de insulina via oral. Os autores verificaram que o tamanho das nanopartículas variava de 100 a 200 nm e quando aumentava-se a massa molar da quitosana ocorria um aumento do tamanho das nanopartículas.

Du e col. (2010) sintetizaram nanopartículas de quitosana com diferentes massas molares reticuladas covalentemente com glutaraldeído para encapsulação de ATP. O tamanho das partículas variava de 104 a 110 nm e que a massa molar da quitosana e a concentração do glutaraldeído praticamente não influenciavam no tamanho da partícula.

4.3.2.4 Estabilidade em Solução

As Figuras 64 e 65 mostram a estabilidade em solução das nanopartículas formadas por QTaCHox1 e CHox1QTa. Para partículas de QTa gotejada em CH, as mais estáveis foram as de razão 1:10, isto é, a que tinha excesso de goma do chichá oxidada, enquanto que nas partículas de CH gotejada em QTa as mais estáveis foram aquelas de razão 1:10, isto é, a que tinha excesso de quitosana. Isso evidencia que a ordem de adição pode interferir na estabilidade das nanopartículas. A Tabela 26 mostra a porcentagem de aumento em 30 dias da amostras.

Figura 64 - Estudo da estabilidade das nanopartículas formadas por QTaCHox1 em diferentes razões massa.

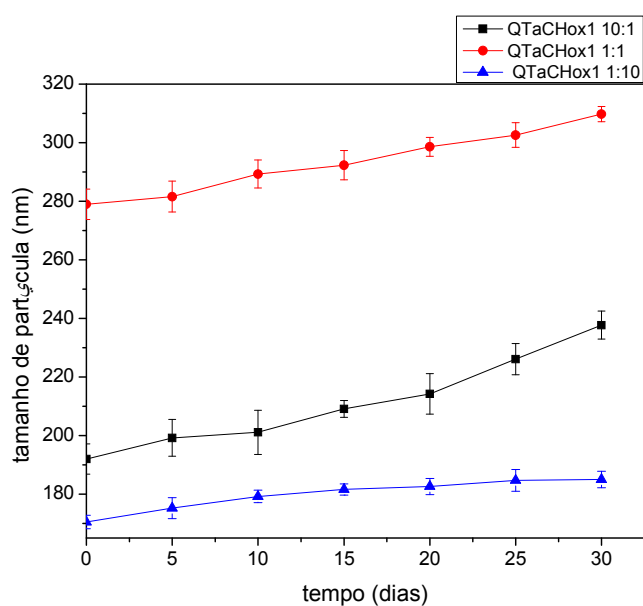


Figura 65 - Estudo da estabilidade das nanopartículas formadas por CHoxQTa em diferentes razões massa

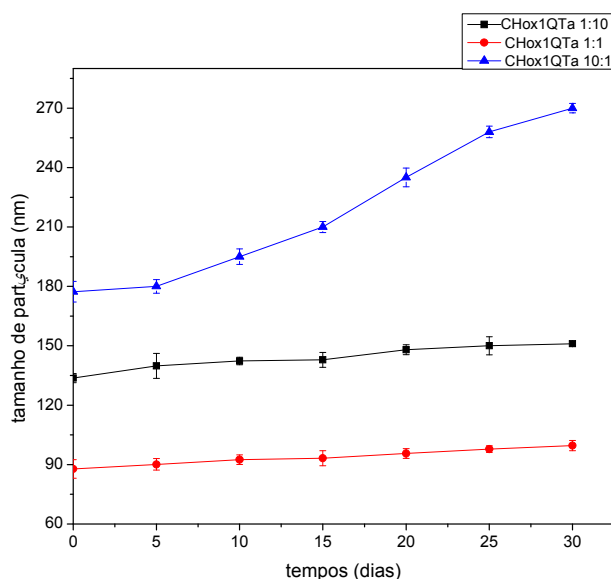


Tabela 26- Porcentagem do aumento de tamanho para amostras de QTa e CHox em 30 dias.

Amostra (razão)	Aumento do tamanho (%)	Amostra (razão)	Aumento do tamanho (%)
QTaCHox (10:1)	23,2	CHoxQTa (1:10)	13,0
QTaCHox (1:1)	10,75	CHoxQTa (1:1)	13,5
QTaCHox (1:10)	8,5	CHoxQTa (10:1)	52,3

Ridolfi e col. (2011) testaram a estabilidade das nanopartículas de lipídio e quitosana e verificaram que o diâmetro da partícula mudou de 284,8 para 463,6 em 30 dias.

4.3.3 Nanopartículas de Quitosana e Chichá Oxidado (CHox2)

4.3.3.1 Potencial Zeta

A Tabela 27 mostra os potenciais zeta das amostras de QTaCHox2 e CHox2QTa. Verifica-se que quando tem-se excesso de QT o potencial é positivo e quando tem-se excesso de CH o potencial torna-se negativo.

Tabela 27 - Potencial Zeta das amostras de QTaCHox2 e CHox2QTa

Amostra (razão)	Potencial Zeta (mV)	Amostra (razão)	Potencial Zeta (mV)
QTaCHox2 (10:1)	+6,2	CHox2QTa (1:10)	+5,9
QTaCHox2 (1:1)	+2,3	CHox2QTa (1:1)	+3,8
QTaCHox2 (1:10)	-20,2	CHox2QTa (10:1)	-13,9

A Tabela 28 mostra os potenciais zeta das amostras de QTbCHox2 e CHox2QTb. Todos os potenciais das amostras são negativos, evidenciando que o CH mais oxidado com uma quitosana de mais baixa massa molar fica com excesso de cargas negativas na superfície da nanopartícula.

Tabela 28 - Potencial Zeta das amostras de QTbCHox2 e CHox2QTb

Amostra (razão)	Potencial Zeta (mV)	Amostra (razão)	Potencial Zeta (mV)
QTbCHox2 (10:1)	-6,4	CHox2QTb (1:10)	-10,28
QTbCHox2 (1:1)	-13,7	CHox2QTb (1:1)	-11,6
QTbCHox2 (1:10)	-17,8	CHox2QTb (10:1)	-16,3

4.3.3.2 Ordem de Adição

A Tabela 29 mostra o efeito da ordem de adição dos polímeros mantendo-se a mesma concentração para partículas formadas por QTa e CHox2.

Tabela 29 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTa e CHox2

Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)
10:1 (QTaCHox2)	122,3	1:1 (QTaCHox2)	66,4	1:10 (QTaCHox2)	30,0
1:10 (CHox2QTa)	137,2	1:1 (CHox2QTa)	95,5	10:1 (CHox2QTa)	63,8

Verifica-se que para mesma razão de massa as amostras onde CH é gotejada em QTa são sempre maiores, mostrando que a ordem de adição influenciou nos resultado dos tamanhos.

A Tabela 30 mostra o efeito da ordem de gotejamento mantendo-se a mesma concentração para partículas formadas por QTb e CHox2. Um comportamento mais variado foi encontrado nas amostras de CH e QTb com mesma razão. Porém os tamanhos variaram em função da ordem de gotejamento.

Tabela 30 - Efeito da ordem de adição das soluções de QTb e CHox2

Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)	Razão (amostra)	Tamanho (nm)
10:1 (QTbCHox2)	445,0	1:1 (QTbCHox2)	171,2	1:10 (QTbCHox2)	137,6
1:10 (CHox2QTb)	436,3	1:1 (CHox2QTb)	154,8	10:1 (CHox2QTb)	194,0

4.3.2.3 Influência da massa molar da quitosana no tamanho das nanopartículas

A Figura 66 mostra o tamanho das nanopartículas formadas por QT gotejada em CHox2, e a Figura 67 o tamanho das nanopartículas de CHox2 gotejada em QT, alterando a massa molar da quitosana. As partículas formadas por CHox2 e QTb são maiores do que as formadas por CHox2 e QTa. Isto pode ser devido a maior oxidação da goma do chichá promovendo uma maior interação (formação de mais base de Schiff) com a quitosana de maior massa molar, uma vez que essa possui maior número de grupos $-NH_2$.

Figura 66 - Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde QT é adicionada a CHox2

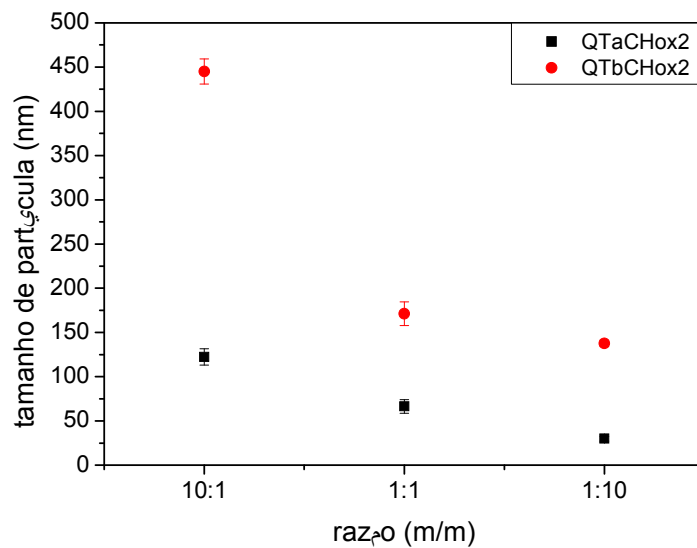
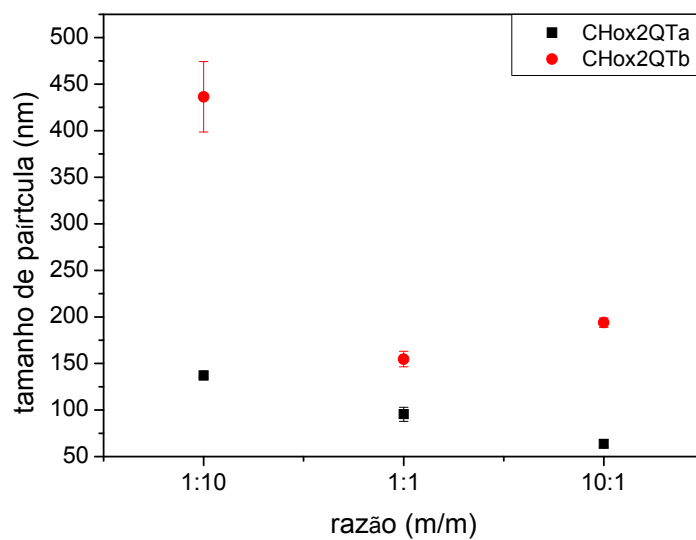


Figura 67 - Efeito da massa molar da quitosana no tamanho de partícula para sistema onde CHox2 é adicionada a QT



5 CONCLUSÃO

Microesferas de quitosana e goma do chichá reticuladas com glutaraldeído foram sintetizadas por complexação polieletrólítica com diâmetro de $543,5 \pm 3,0 \mu\text{m}$. Os ensaios de intumescimento mostraram que as microesferas tinham intumescimento máximo em pH 1,2, esferas não reticuladas intumesciam mais do que as reticuladas e que o coeficiente de difusão diminuía com a reticulação. A liberação sequenciada do cloroquina foi de aproximadamente 92% em 3 horas. A liberação em pH 7,4 mostrou que apenas 34% da cloroquina foi liberado nas primeiras duas horas. A liberação foi realizada por cerca de 50 horas, onde foi alcançado o valor máximo de cloroquina liberado, cerca de 93%.

Nanopartículas de quitosana e goma do chichá foram obtidas por complexação polieletrólítica. Fatores como: massa molar da quitosana, razão de cargas (n^+/n^-), ordem de adição dos polieletrólitos e concentração das soluções dos polieletrólitos, influenciaram no tamanho de partícula, potencial zeta, estabilidade em solução, incorporação e liberação de cloroquina.

Partículas com excesso de QT possuíam potencial zeta positivo e à medida que se diminui a razão n^+/n^- o potencial também diminuía, chegando a valores negativos nas razões abaixo de 0,7. Os tamanhos das nanopartículas variaram de 80 nm a 1200 nm, as menores partículas eram obtidas com excesso de chichá. A diminuição da concentração dos polieletrólitos diminui o tamanho das nanopartículas. Partículas sintetizadas com QTb possuíam maiores tamanhos do que partículas de QTa.

A incorporação e a liberação da cloroquina pelas nanopartículas foram afetadas pela razão n^+/n^- dos polieletrólitos. A liberação mostrou-se lenta e durou cerca de 14 dias, mostrando que o sistema é eficiente para liberação controlada de cloroquina.

Goma do chichá obtida com dois diferentes graus de oxidação foi utilizada para obtenção de nanopartículas com quitosana via formação de base de Schiff.

A massa molar da quitosana, a razão de massa entre os polissacarídeos, o grau de oxidação bem como a ordem de adição destes influenciaram no tamanho e no potencial zeta das nanopartículas formadas. Partículas com excesso de

quitosana apresentavam potencial zeta positivo e partículas com excesso de chichá apresentavam potencial negativo.

Nanopartículas formadas por goma do chichá com maior grau de oxidação possuem menor tamanho de partícula quando a base de Schiff é formada utilizando quitosana de baixa massa molar (QTb), enquanto que para a amostra de menor grau de oxidação um comportamento inverso foi obtido.

Nanopartículas formadas por complexação polieletrólítica tiveram uma maior estabilidade quando formada por excesso de chichá. Porém para nanopartículas formadas por Base de Schiff não apresentaram comportamento semelhante.

REFERÊNCIAS

- AALMO, K. ; PAINTER, T. Periodate-oxidation of methyl glycopyranosides - rate coefficients and relative stabilities of intermediate hemiacetals. **Carbohydrate Research**, v. 89, p. 73-82, 1981.
- ABRAN M. S., HILGUERA I. em **Quitina y Quitosano**, Ed. Ana Pastor de Abram, Peru (2004), Cap. 1 Generalidades.
- AGRA, M.; FREITAS, P.; BARBOSA-FILHO, J. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140, 2007.
- AHN, S.-K.; KASI, R.M.; KIM, S.-C.; SHARMA, N.; ZHOU, Y. Stimuli-responsive polymer gels. **Soft Matter**, 2008. v. 4, p. 1151-1157, 2008.
- ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**, Ed. Artmed, 8a Ed., Porto Alegre, 2007.
- ALLEN, T. **Particle Size Measurement**, 4th edition, Chapman and Hall, 1992.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa, p. 464, 1989.
- 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**, v. 84, p. 1158-1164, 2011.
- ANSEL, H. C., POPOVICH, N. G., ALLEN, L. V. Formas farmacêuticas com velocidade controlada e sistemas de liberação de fármacos. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, cap. 9, p. 283-300, 2007.
- ARAÚJO, F. D. S. Potencialidade das espécies *Jatropha curcas* L., *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns e *Dipteryx lacunifera* Ducke para produção de biodiesel. **Centro de Ciências da Natureza/Universidade Federal do Piauí**, Teresina, Piauí. P. 127, 2008.
- ASPINAL, G. O., **The polysaccharides**. *Academic Press*, v. 1, cap 2, 1982.
- ASPINAL, G. O.; SANDERSON, G. R. Plant gums of the genus Sterculia. Part V. Degradation of carboxy-reduced Sterculia urens gum. **Journal of Chemical Society (C)**, p. 2259–2264, 1970.
- AUED-PIMENTEL, S.; LAGO, J. H. G.; CHAVES, M. H.; KUMAGAI, E. E.

Evaluation of a methylation procedure to determine cyclopropenoids fatty acids from *Sterculia striata* St. Hil. et Nauds seed oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 235-239, 2004.

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.

AZEVEDO, M.M. Nanoesferas e a Liberacao Controlada de Farmacos. Monografia - **Instituto de Quimica, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp**, 2002.

BAE, B-C.; NA, K. Self-quenching polysaccharide-based nanogels of pullulan/folatephotosensitizer conjugates for photodynamic therapy. **Biomaterials**, v. 31, p. 6325-6335, 2010.

BAJPAI, A.K.; SHUKLA, S.; BHANU, S.; KANKANE, K. Responsive polymers in controlled drug delivery. **Progress in Polymer Science**, v. 33, p. 1088-1118, 2008.

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**, v. 39, p. 2187-2204, 1990.

BARAKAT, N. S.; ALMURSHEDI, A. S. Design and development of gliclazide-loaded chitosan microparticles for oral sustained drug delivery: in-vitro/in-vivo evaluation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, p. 169-178, 2011.

BATYCKY, R. P.; HANES, J.; LANGER, R. E.; EDWARDS, D. A. A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres. **Journal of Pharmaceutical Science** 86:1.464-1.477, 1997.

BAWA, P.; PILLAY, V.; CHOONARA, Y. E.; DU TOIT, L. C.; NDESENDO, V. M.; KUMAR, P. A Composite Polyelectrolytic Matrix for Controlled Oral Drug Delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, p. 227-238, 2011.

BECHERÁN-MARÓN, L.; PENICHE, C.; ARGÜELLES-MONAL, W. Study of the interpolyelectrolyte reaction between chitosan and alginate: influence of alginate composition and chitosan molecular weight. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 34, p. 127-133, 2004.

BECKERS, G. J. J.; VERINGA, H. J. Some restrictions in particle sizing with the horiba CAPA-500. **Powder Technology**, v. 60, p. 245-248, 1989.

BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; STOJANOVIĆ, R.; MANOJLOVIĆ, V.; KOMES, D.; CINDRIĆ, I. J.; NEDOVIĆ, V.; BUGARSKI, B.; Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. **Food**

Research International, v. 44, p. 1094–1101, 2011.

BENITA, S. *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*, Second Edition, 2006.

BERGER J., REIST M., MAYER J. M, FELT O., GURNY R., Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 35-52, 2004.

BHASKARAN, M.; SRIRAM, S.; MITCHELL, D. Characterisation of silicide thin films for semiconductor and nanotechnology electronics. **Applied Physics in the 21st Century (Horizons in World Physics)**, p. 273-300, 2010.

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, p.51–62, 2011.

BODDOHI, S.; MOORE, N.; JOHNSON, P.; KIPPER, M.; Polysaccharide-Based Polyelectrolyte Complex Nanoparticles from Chitosan, Heparin, and Hyaluronan. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 1402-1409, 2009.

BODNAR, M.; HARTMANN, J. F.; BORBELY, J. Nanoparticles from chitosan. **Macromolecular Symposium**, v. 227, p. 321-326, 2005a.

BODNAR, M.; HARTMANN, J. F.; BORBELY, J. Preparation and characterization of chitosan-based nanoparticles. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 2521-2527, 2005b.

BRANNON-PEPPAS, L; BLANCHETE, J.O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy . **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 56, p. 1649-1659 , 2004.

BRITO A. C. F., **Composição e Efeito dos Ions nas Propriedades Físico-Químicas da Goma Exudada da *Sterculia Striata* (Chichá)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC, Fortaleza, 2000.

BRITO A.C.F., SIERAKOWSKI M-R., REICHER F., FEITOSA J.P.A., de PAULA R.C.M., Dynamic rheological study of *Sterculia striata* and karaya polysaccharides in aqueous solution. **Food hydrocolloids**, v. 19, p. 861-867, 2005.

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, p. 1025-1032, 2004.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F. M.; ARGÜELLES-MONAL, M.; DESBRIERES, J.; RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, 42, p. 3569-3580, 2001.

BUCHHAMMER, H. M.; MENDE, M.; OELMANN, M. Formation of mono-sized polyelectrolyte complex dispersions: effects of polymer structure, concentration and mixing conditions. **Colloids Surfaces A**, v. 218, p. 151-159, 2003.

BUCHHAMMER, H. M.; PETZOLD, G.; LUNKWITZ, K. Nanoparticles based on polyelectrolyte complexes: effect of structure and net charge on the sorption capability for solved organic molecules. **Colloid Polymer Science**, v. 278, p. 841-847, 2000.

CASAS, M.; FERRERO, C.; JIMENEZ-CASTELLANOS, M. R. Graft tapioca starch copolymers as novel excipients for controlled-release matrix tablets. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 71-77, 2010.

CHAURASIA, M.; CHOURASIA, M.; JAIN, N.; JAIN, A.; SONI, V.; GUPTA, Y.; JAIN, S. Cross-Linked Guar Gum Microspheres: A Viable Approach for Improved Delivery of Anticancer Drugs for the Treatment of Colorectal Cancer. **AAPS PharmSciTech**, v. 7, p. 74-80, 2006.

CHAVES, M. H.; BARBOSA, A. S.; MOITA NETO, J. M.; AUED-PIMENTEL, S.; LAGO, J. H. G. Caracterização química do óleo de amêndoa de *Sterculia striata* St. Hil. Et. Naud. **Química Nova**, v. 27, p. 404-408, 2004.

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**, v. 185, p. 430-441, 2011.

CHOI, K.; CHUNG, H.; MIN, K. H.; YOON, H. Y.; KIM, K.; PARK, J. H.; KWON, I. C.; JEONG, S. Y. Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles for active tumor targeting. **Biomaterials**, v. 31, p. 106-114, 2010.

CHOI, W.; KIM, J-Y.; KANG, C.; BYEON, C.; KIM, Y.; TAE, G. Tumor Regression In Vivo by Photothermal Therapy Based on Gold-Nanorod-Loaded, Functional Nanocarriers. **ACS Nano**, v. 5, p. 1995-2003, 2011.

CHRISTENSEN, B. E.; AASPRONG, E.; STOKKE, B. T.; Gelation of periodate oxidised scleroglucan (scleraldehyde). **Carbohydrate Polymers**, v. 46, p. 241-248, 2001.

COIMBRA, P.; FERREIRA, P.; SOUSA, H. C.; BATISTA, P.; RODRIGUES, M. A.; CORREIA, I. J.; GIL, M. H. Preparation and chemical and biological characterization of a pectin/chitosan polyelectrolyte complex scaffold for possible bone tissue engineering applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 112-118, 2011.

COLLETT, J.; MORETON, C. Formas farmacêuticas perorais de liberação

modificada. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. São Paulo: Artmed, 2005. cap. 20, p. 298-313.

COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, W. C.; COSTA, C. L. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. **ACTA AMAZONICA**, v. 40, p. 207-212, 2010.

CRESCENZI, V., GAMINI, A., PARADOSSI, G., TORRI, G. Solution properties of a new polyelectrolyte derived from the polysaccharide scleroglucan. **Carbohydrate Polymers**, v. 3, p. 273-286, 1983.

CSABA, N.; JANES, K.; FERNÁNDEZ, M. J. **Nanopartículas de quitosana e polietilenoglicol como sistema de administração de moléculas biologicamente ativas**. Patente nº PI0608635-7A2, 2006.

DANESHFAR, A.; VAFAFARD, S. Solubility of chloroquine diphosphate and 4,7- dichloroquinoline in water, ethanol, tetrahydrofuran, acetonitrile, and acetone from (298.2 to 333.2) K. **Journal of Chemical Engineering Data**, v. 54, p. 2170-2173, 2009.

DAS S., CHAUDHURY, A.; NG, K.-Y. Preparation and evaluation of zinc–pectin–chitosan composite particles for drug delivery to the colon: Role of chitosan in modifying in vitro and in vivo drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 406, p. 11–20, 2011.

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

DAUTZENBERG H., Chemistry of polyelectrolytes. Radeva, T., Eds.; **Surfactants Science Series 99**; Dekker: New York, 2001; p 743.

DAUTZENBERG, H.; HARTMANN, J.; GRUNEWALD, S.; BRAND F. Stoichiometry and structure of polyelectrolyte complex particles in diluted solutions. **Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie**, v. 100, 1024-1032, 1996.

DAWLEE, S., SUGANDHI, A., BALAKRISHNAN, B., LABARRE, D., JAYAKRISHNAN, A., Oxidized chondroitin sulfate-cross-linked gelatin matrixes: A new class of hydrogels. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 2040-2048, 2005.

DESIMONE, J. M.; WILLIAMS, M. S. **Intraluminal prostheses having polymeric material with selectively modified crystallinity and methods of making same**. Patente nº 7919162, 2011.

DEV, A.; BINULAL, N. S.; ANITHA, A.; NAIR, S. V.; FURUIKE, T.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Preparation of poly(lactic acid)/chitosan nanoparticles for anti-HIV drug delivery applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 833–838, 2010.

- DIAS, L.R.S. Situação mundial da malária. **Infarma**, v.14, p.87-88, 2002.
- DONG, Y. M.; QIU, W. B.; RUAN, Y.; WU, Y. S.; WANG, M. A.; XU C. Y. Influence of molecular weight on critical concentration of chitosan/formic acid liquid crystalline solution. **Polymer Journal**, v. 33, p. 387-389, 2001.
- DRUGDEL SITE, disponível em: <www.drugdel.com/polymer.htm>. Acesso em 4 de julho de 2009.
- DU Y-Z., YING X-Y., WANG L., ZHAI Y., YUAN H., YU R-S., FU-QIANG HU F-Q., Sustained release of ATP encapsulated in chitosan oligosaccharide nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 392, p. 164-169, 2010.
- DUAN, K.; CHEN, H.; HUANG, J.; YU, J.; LIU, S.; WANG, D.; LI, Y. One-step synthesis of amino-reserved chitosan-graft-polycaprolactone as a promising substance of biomaterial. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 498–503, 2010.
- DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., REBERS P. A., SMITH F., **Analytical Chemistry** 28 (1956) 350.
- DURAN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: Introdução, preparação, caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. São Paulo: Artliber Editora, 2006.
- ETTMAYER, P.; AMIDON, G. L.; CLEMENT, B.; TESTA, B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. **Journal of Medical Chemistry**, v. 47 p. 2393-2404, 2004.
- 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**, v. 90, p. 21– 27, 2012.
- FIGUEREIDO, Ana Margarida Dias. **Preparação e caracterização de micropartículas de polissacáridos para libertação controlada de fármacos anticancerígenos no cólon**. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química e Bioquímica na Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa
- 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.
- FREIBERG, S.; ZHU, X. X. Polymer microspheres for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 282, p. 1-18, 2004.
- GAN, Q.; WANG, T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier— Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, p. 24-34, 2007.

GANGULY, K.; AMINABHAVI, T. M.; KULKARNI, A. R. Colon Targeting of 5-Fluorouracil Using Polyethylene Glycol Cross-linked Chitosan Microspheres Enteric Coated with Cellulose Acetate Phthalate. **Industrial & Engineering Chemistry . Research**, v. 50, p. 11797–11807, 2011.

GANJI, F.; ABDEKHODAIE, M. J. Chitosan–g-PLGA copolymer as a thermosensitive membrane. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 740–746, 2010.

GAO, C.; LIU, M.; CHEN, J.; ZHANG, X.; Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1405-1410, 2009.

GIANNOTTI, M.; ESTEBAN, O.; OLIVA, M.; GÁRCIA-PARAJO, M.; SANZ, F. pH-Responsive Polysaccharide-based complexes as nanocarriers for lysosomal delivery of therapeutic proteins. **Biomacromolecules**, v. 12, p. 2524-2533, 2001.

GOMEZ, C. G.; RINAUDO, M.; VILLAR, M. A. Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 296-304, 2007.

GONSALVES, A.; E ARAÚJO, C. R.; SOARES, N. A.; GOULART, M. O.; ABREU, F. C. Diferentes Estratégias para a reticulação da quitosana. **Química Nova**, v. 34, p. 1215-1223, 2011.

GOOSEN, M. E. Applications of chitin and chitosan. **Technomic Publishing Company, Lancaster**, 1996.

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

HAMIDI, M.; AZADI, A.; RAFIEI, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p.1638-1649, 2008.

HAROGOPPAD S. B., AMINABHAVI T. M., Diffusion and sorption of organic liquids through polymer membranes. VIII: Elastomers versus monocyclic aromatic liquids. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 46, p. 725-732, 1992.

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

HU, B.; HUANG, Q. R.; ZENG, X. X. Assembly of Nanoparticles from Bioactive Peptides and Chitosan. **MRS Proceedings**, v. 1312, 2011.

HUA, M-Y.; YANG, H.-W.; LIU, H-L.; TSAI, R-Y.; PANG, S-T.; CHUANG, K-L.; CHANG, Y-S.; HWANG, T-L.; CHANG, Y-H.; CHUANG, H-C.; CHUANG C-K.

Superhigh-magnetization nanocarrier as a doxorubicin delivery platform for magnetic targeting therapy. **Biomaterials**, v. 32, p. 8999-9010, 2011.

IBRAHIM, M. N.; SHARIF, S. A. Synthesis, Characterization and Use of Schiff Bases as Fluorimetric Analytical Reagents. **Journal of Chemistry**, v. 4, p. 531-535, 2007.

IQUSP SITE, disponível em:

<www.iq.usp.br/wwwdocentes/rtorresi/portugues/interesse/drogas.htm>.

Acesso em 4 de junho de 2009.

IŞIKLAN, N.; KURŞUN, F.; İNAIL, M. Graft copolymerization of itaconic acid onto sodium alginate using benzoyl peroxide. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 665–672, 2010.

JACKSON, E. L.; HUDSON, C. S.; The Structure of the Products of the Periodic Acid Oxidation of Starch and Cellulose. **Journal of America Chemical Society**, v. 60, p. 989-991, 1938.

JACOBS, C.; MASON, N. S.; EL-NOKALY, M. A.; PIATT, D. A.; CHARPENTIER, B. A. Polymer Delivery Systems Properties and Applications. **ACS Symposium Series**. n. 520, cap. 1, 1993.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; KUMAR, P. T.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 322-337, 2011.

JENKINS, D. W.; HUDSON, S. M. Review of Vinyl Graft Copolymerization Featuring Recent Advances toward Controlled Radical-Based Reactions and Illustrated with Chitin/Chitosan Trunk Polymers. **Chemical Reviews**, v. 101, p. 3245-3273, 2001.

JILLAVENKATESA, A.; DAPKUNAS, S. J.; LUM, L-S. NIST Special Publication 960-961, Particle Size Characterization. Jan. 2001.

JINTAPATANAKIT, A.; JUNYAPRASERT, V.; MAO, S.; SITTERBERG, J.; BAKOWSKY, U.; KISSEL, T.; **International Journal of Pharmaceutics**, v. 342, p. 240-249, 2007.

KABANOV, V. A.; ZEZIN, A. B. A new class of complex water-soluble polyelectrolytes. **Makromolekular Chem., Suppl.**, v.6, p. 259-276, 1984.

KANAUCHI, O.; DEUCHI, K.; IMASAI, Y.; SHIZUKUISHI, M.; KOBAYASHI, E. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. **Bioscience and Biotechnology**, v. 59, p. 786-790, 1995.

KARNCHANAJINDANUN, J.; SRISA-ARD, M.; BAIMARK, Y. Genipin-cross-linked chitosan microspheres prepared by a water-in-oil emulsion solvent diffusion method for protein delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 674-680, 2011.

KECK, C. M.; MULLER, R. H. Size analysis of submicron particles by laser diffractometry—90% of the published measurements are false. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 355, p. 150–163, 2008.

KENDALL, K. Influence of powder structure on processing and properties of advanced ceramics. **Powder Technology**, v. 58, p. 151-161, 1989.

KIM, E.; WHITESIDES, G. M. The Use of Minimal Free Energy and Self-Assembly to Form Shapes. **Chemistry of Materials**, v. 7, p. 1257-126, 1995.

KREMSNER, P.G.; KRISHNA, S. Antimalarial combinations. **Lancet, Amsterdam**, v. 364, p. 285-294, 2004.

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 malaria or plants randomly selected: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 1033-1042, 2001.

KUCKLING, D.; PARREK, P. Bilayer hydrogel assembly. **Polymer**, v. 49, p.1435-1439, 2008.

KULKARNI, R.; MANGONDA, B. S.; MUTALIKB, S.; BISWANATH, A. Interpenetrating polymer network microcapsules of gellan gum and egg albumin entrapped with diltiazem–resin complex for controlled release application. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1001–1007, 2011.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K; FAUSTO, N. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7 ed. Rio de Janeiro: Ed. Saunders Elsevier, p.357-432, 2005..

KUMBAR S. G., SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M. Synthesis and characterization of polyacrylamide-grafted chitosan hydrogel microspheres for the controlled release of indomethacin. **Journal of Applied of Polymer Science**, v. 87, p. 1525-1536, 2003.

LACERDA, K. A.; SILVA, M. M.; CARBONE, C. M. A.; REIS, E. F.; SAGGIN, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. **Cerne, Lavras**, v. 17, p. 377-386, 2011.

LAI, F.; WISSING, S.; MÜLLER, R.; FADDA, A. Artemisia arborescens L essential oil loaded, solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. **AAPS PharmSciTech**, v. 7, p. E1-E9, 2006.

LANGER, R.; PEPPAS, N. A. Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. **AIChE Journal**, v. 12, p. 2990–3006, 2003.

LAVERTU, M.; XIA, Z; SERREGI, A. N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.;

WANG, D.; BUSCHAMN, M.; GUPTA, A. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. **Journal of Pharmaceutcs on biomedical Analysis**, v. 32, p. 1149-1158, 2003.

LE CERF, D.; IRINEI, F.; MULLER, G. Solution properties of gum exudates from *Sterculia urens* (karaya gum). **Carbohydrate Polymers**, v. 13, p. 375–386, 1990.

LE DUNG, P.; MILAS, M.; RINAUDO, M; DESBRIÈRES, J. **Carbohydrate Polymers**, v. 24, p. 209-214, 1994.

LEE, K. Y.; YUK, S. H. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p.669, 2007.

LI, Y.; MCCLEMENTS, D. J.. Controlling lipid digestion by encapsulation of protein-stabilized lipid droplets within alginatechitosan complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p.1025-1033, 2011.

LIN, Y-H.; CHANG, C-H.; WU, Y-S.; HSU, Y-M.; CHIOU, S-F.; CHEN, Y-J. Development of pH-responsive chitosan/heparin nanoparticles for stomach-specific anti-*Helicobacter pylori* therapy. **Biomaterials**, v. 30, 3332–3342, 2009.

LINHARD R. Biodegradable polymers for controlled release of drugs. **Controlled release of drugs: Polymers and aggregate systems**. VCH Publisher Inc., p. 53-85, 1988.

LIU, L.; SHI, A.; GUO, S.; FANG, Y.; CHEN, S.; LI, J. Preparation of chitosan-g-poly lactide graft copolymers via self-catalysis of phthaloylchitosan and their complexation with DNA. **Reactive & Functional Polymers**, v. 70, p. 301–305, 2010.

LIU, S.; MAHESHWARI, R.; KIICK, K. L. **Macromolecules**, v. 42, p.3, 2009.

LIU, T.; MUSINSKI, L.; PATEL, P.; GALLIMORE, A.; GILCHRIST, B.; KEIDAR, M. Nanoparticle Electric Propulsion for Space Exploration. **Space Technology and Applications International Forum**, v. 880, p. 787-794, 2007.

LLEMANN, E.; GURNY, R.; DOELKER, E. Drug-load nanoparticles: preparation methods and drug targeting issues. **European Journal of pharmaceuticals and Biopharmaceutics**, v. 39, p. 173-191, 1993.

LOISEAU, P.M.; LE BRAS, J. New drugs against parasitic diseases. **Rev. Prat., Paris**, v.57, p.175-182, 2007.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; VON BEHR, N. **Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas, Plantarum: Nova Odessa**, p. 303 , 1996.

LU, H-D.; ZHAO, H-Q.; WANG, K.; LV, L-L. Novel hyaluronic acid–chitosan nanoparticles as non-viral gene delivery vectors targeting osteoarthritis.

International Journal of Pharmaceutics, v. 420, p. 358-365, 2011.

MACIEL J. S., **Géis de Goma do Cajueiro e Derivados Com Quitosana: Síntese, Caracterização e Ensaio Preliminares em Sistemas de Liberação de Fármacos**. 2005. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) - Departamento de Química Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza (2005).

MACIEL J. S., **Géis de Goma do Cajueiro e Derivados Com Quitosana: Síntese, Caracterização e Ensaio Preliminares em Sistemas de Liberação de Fármacos**. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC, Fortaleza, 2005.

MAGALHÃES JR.; G. M.; SANTOS, C. M. W.; SILVA, D. A.; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M.; Microspheres of chitosan/carboxymethyl cashew gum (CH/CMCG): effect of chitosan molar mass and CMCG degree of substitution on the swelling and BSA release **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 217-222, 2009.

MAHEU-GIROUX, M.; CASAPIA, M.; SOTO-CALLE, V. E.; FORD, L. B.; BUCKERIDGE, D. L.; COOMES, O. T.; GYORKOS, T. W. Risk of malaria transmission from fish ponds in the Peruvian Amazon. **Acta Tropica**, v. 115, p. 112-118, 2010.

MAHMOUD, A.; EL-FEKYA, G. S.; GHADA, R. K.; AWAD, E. A. Chitosan/sulfobutylether- β -cyclodextrin nanoparticles as a potential approach for ocular drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 413, p. 229– 236, 2011.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 38, p. 375-399, 2002.

MANGAS, M.B.P.; ROCHA, F. N.; SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, S. P.; BARBOSA, D. C.; dos SANTOS, R. B.; CARVALHO, S. H.; SOLETTI, J. I.; Characterization of biodiesel and bio-oil from *Sterculia striata* (chicha) oil. **Industrial Crops and Products**, v. 36, p. 349– 354, 2012.

MANO, E.B.; MENDES, L.C. **Introdução a Polímeros**. 2. ed. revista e ampliada. São Paulo: Edgard Blücher, 1999, 191p.

MANSOUR, H. M.; SOHN, M. J.; AL-GHANANEEM, A.; DELUCA, P. Materials for Pharmaceutical Dosage Forms: Molecular Pharmaceutics and Controlled Release Drug Delivery Aspects, **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 3298-3322, 2010.

MAO S., BAKOWSKY, JINTAPATTANAKIT A., KISSEL T., Self-assembled polyelectrolyte nanocomplexes between chitosan derivatives and insulin. **Journal Pharmaceutics Science**, v. 95, p.1035-1048, 2006.

MAO, H.Q.; ROY, K.; TROUNG-LE, V.L.; JANES, K.A.; LIN, K.Y.; WANG, Y.; AUGUST, J.T.; LEONG, K.W. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. **Journal of Control Release**, v. 70, p. 399–421, 2001.

MARANHO, D. **Estudo comparativo “in vitro” de formas farmacêuticas sólidas de liberação controlada contendo diclofenaco sódico**. 2000. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K.; Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **Journal of Chemical Education**, v.67, p.938-942, 1990.

MAURO, C. P. **Comprimidos de liberação controlada**. 2007. Monografia (Graduação em Farmácia) - Centro Universitario das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007.

MENG, X.; LI, P.; WEI, Q.; ZHANG H-X. pH sensitive alginate-chitosan hydrogel beads for carvedilol delivery. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, p. 22-28, 2011.

MI, F. L.; SUNG, H. W.; SHYU, S. S.; SU, C. C.; PENG, C. K. Synthesis and characterization of biodegradable TPP/genipin co-crosslinked chitosan gel beads. **Polymer**, v. 44, p. 6521-6530, 2003.

MISHRA, M. M.; YADAV, M.; SAND, A.; TRIPATHY, J.; BEHARI, K. Water soluble graft copolymer (j-carrageenan-g-N-vinyl formamide): Preparation, characterization and application. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 235–241, 2010.

MOORE, G. K.; ROBERTS, A. F. Chitosan gels: Study reaction variables. **International Journal of Biological. Macromolecules**, v. 2. p. 74-77, 1980.

MORRIS, E. R.; REES, D. A.; WHELISH, E. J.; DUNFIELD, L. G.; WHITTINGTON S. G. Relation between primary structure and chain flexibility of random coil polysaccharides—calculation and experiment for a range of model carrageenans. **J Chem Soc Perkin Trans**, v. 2, p. 793-800, 1978.

MORRIS, G.; CASTILE, J.; SMITH, A.; ADAMS, G. G.; HARDING, S. E. The effect of prolonged storage at different temperatures on the particle size distribution of tripolyphosphate (TPP) – chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 1430–1434, 2011.

MOURA NETO E., **Desenvolvimento de Novos Materiais a Base de Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*): Derivados de Microesfera com Gelatina**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC, Fortaleza, 2008.

MUNDARGI, R. C.; SHELKE, N. B.; ROKHADE, A. P.; PATIL, S. A.; AMINABHAVI, T. M. Formulation and *in-vitro* evaluation of novel starch-based tableted microspheres for controlled release of ampicillin. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 42-53, 2008.

MUZZARELLI R., Chitosan, em: Muzzarelli (Ed.), **Natural Chelating Polymers**, Pergamon Press, Oxford, 1973, p. 144.

NASSUTE, J.C.; LONGO, M. C.; MENEGON, R. F.; RIBEIRO, Y. A.; CHUNG, M. C. Atividade antiedema do pró-fármaco polimérico PDC-70 derivado de diclofenaco. **Revista Ciência Farmaceutica**, v. 23, p. 255-261, 2002.

NEETHIRAJAN, S.; JAYAS, D. Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries. **Food Bioprocess Technol**, v. 4, p. 39-47, 2011.

NICHIFOR, M.; LOPES, A.; CARPOV, A.; MELO, E. Aggregation in water of dextran hydrofobically modified with bile acids. **Macromolecules**, v. 32, p. 7078-7085, 1999.

NISHI, K. K., JAYAKRISHNAN, A. Preparation and in vitro evaluation of primaquine-conjugated gum arabic microspheres. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 1489-1495, 2004.

NISHI, K. K.; JAYAKRISHNAN, A. Self-gelling primaquine-gum arabic conjugate: an injectable controlled delivery system for primaquine. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 84-90, 2007.

OH, J. K. - J. Amal. **Chemical Society**, 129, p.5934, 2007.

OJOE, E. **Desenvolvimento e avaliação “in vitro” de comprimidos de liberação controlada de teofilina**. 2003. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

OLIVEIRA M.; CIARLINI P.; FEITOSA J.; PAULA R.; PAULA H. Chitosan/“angico” gum nanoparticles: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering C**, 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 (Doutorado em Química) –Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

ORÉFICE, R.L. Materiais poliméricos - ciência e aplicações como biomateriais. **Biomateriais fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, p.87-155, 2006.

OYARZUN-AMPUEROA, F. A.; BREAB, J.; LOZAB, M.; TORRESA, D.; ALONSOA, M. J. Chitosan-hyaluronic acid nanoparticles loaded with heparin for the treatment of asthma. **International Journal of Pharmaceutics**, v., 381,

p. 122-129, 2009.

PALMIERI, G.F.; BONACUCINA, G.; DI MARTINO, P.; MARTELLI, S. Microencapsulation of semisolid ketoprofen/polymer microspheres, **Int. J. Pharm.**, v. 242, p. 175-178, 2002.

PAN, W. K-Y.; ERLIEN, C.; BILSBORROW, R. E. Morbidity and mortality disparities among colonist and indigenous populations in the Ecuadorian Amazon. **Social Science & Medicine**, v. 70, p. 401–411, 2010.

PASTOR, E.; MATVEEVA, E.; VALLE-GALLEGO, A.; GOYCOOLEA, F.; GARCIA-FUENTES, M. Protein delivery based on uncoated and chitosan-coated mesoporous silicon Microparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v., 88, p. 601– 609, 2011.

PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of Anacardium occidentale exudate polysaccharide. **Polymer International**, v. 45, p. 27-35 1998.

PAWAR, H.; DOUROUMIS, D.; BOATENG, J. Preparation and optimization of PMAA–chitosan–PEG nanoparticles for oral drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 90, p. 102–108, 2012.

PERELSHTAIN, I.; APPLEROT, G.; PERKAS, N.; GUIBERT, G.; MIKHAILOV, S.; GEDANKEN, A. Sonochemical coating of silver nanoparticles on textile fabrics (nylon, polyester and cotton) and their antibacterial activity. **Nanotechnology**, v. 19, 245705, 2008.

PERLIN, A. S.; CASU, B. **The Polysaccharide**, ed. Aspinall G. O., Academic Press, Ney York, p. 133-191, 1982.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery, **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 5, p. 447-451, 2001.

PIO CÔRREA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1974.

PIUSH, K.; SANJAY, K. Influence of Rheology of Dispersion Media in the Preparation of Polymeric Microspheres Through Emulsification Method. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, p. 1295-1300, 2009.

POON, Z.; CHANG, D.; ZHAO, X.; HAMMOND, P. Layer-by-Layer Nanoparticles with a pH-Sheddable Layer for in Vivo Targeting of Tumor Hypoxia. **ACS Nano**, v. 5, p. 4284–4292, 2011.

QI J.; YAO, P.; HE, F.; YU, C.; CHONG, H. Nanoparticles with dextran/chitosan shell and BSA/chitosan core—Doxorubicin loading and delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 393, p. 177-185, 2010.

RAWLE, A. The importance of particle sizing to the coatings industry Part 1:

Particle size measurement. **Advances in Colour Science and Technology**, v. 5, p. 1-12, 2002

RIDOLFI, D.; MARCATOA, P. D.; JUSTO, G. Z.; CORDI, L.; MACHADO, D.; DURAN, N. Chitosan-solid lipid nanoparticles as carriers for topical for delivery of Tretinoin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. doi:10.1016/j.colsurfb.2011.11.051.

RIOS, M. Polymers for Controlled Release: Formulation Follows Function. **Pharm. Technol.**, v. 29, p. 42-50, 2005.

RITGER, P. L.; PEPAS, N. A. A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal Control Release**. v. 5, p. 23-26, 1987.

ROBINSON, G.; MANNING, C. E.; MORRIS, E. R. Conformation and physical properties of the bacterial polysaccharides gellan, welan and rhamosanin. **Food Polymers, Gels and Colloids**, ed. by Dickinson E, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 22–33, 1990.

ROBINSON, R.; VIVIANO, S.; CRISCIONE, J.; WILLIAMS, C.; JUN, L.; TSAI, J.; LAVIC, E. Nanospheres Delivering the EGFR TKI AG1478 Promote Optic Nerve Regeneration: The Role of Size for Intraocular Drug Delivery. **ACS Nano**, v. 5, p. 4392–4400, 2011.

RODRIGUES, M. R. Synthesis and investigation of chitosan derivatives formed by reaction with acyl chlorides. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 24, p. 41-54, 2005.

RUSU-BALAITA. L.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Formation of a biocompatible polyelectrolytic complex: Chitosan-hyaluronan complex stability. **Polymer Bulletin**, v.50, p. 91-98, 2003.

SAND, A.; YADAV, M.; BEHARI, K. Preparation and characterization of modified sodium carboxymethyl cellulose via free radical graft copolymerization of vinyl sulfonic acid in aqueous media, **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 97-103, 2010.

SARMENTO, B.; RIBEIRO, A.; VEIGA, F.; FERREIRA, D. Development and characterization of new insulin containing polysaccharide nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 53, p. 193-202, 2006.

SARMENTO, B; RIBEIRO, A.; VEIGA, F.; SAMPAIO, P.; NEUFELD, R.; FERREIRA, D. Alginate/chitosan nanoparticles are effective for oral insulin delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 24, p. 2198–206, 2007.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERREZ, S.S. Caracterizacao e estabilidade fisico-quimica de sistemas polimericos nanoparticulados para administracao de farmacos. **Química Nova**, v.26, p.726-737, 2003.

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

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

SCHNEIDER, N. S.; DOTY, P. The ionic strength dependence of the molecular properties of sodium carboxymethylcellulose. **Journal of Physical Chemistry**, v. 58, p. 762-769, 1954.

SCHULZ, D., RAPP, P., Properties of the polyalcohol prepared from the beta-d-glucan schizophyllan by periodate-oxidation and borohydride reduction. **Carbohydrate Research**, v. 222, p. 223-231, 1991.

SEREIA, V., CÂMARA, M. R. G.; SOUZA, L. G. A.; VIEIRA, S. F. A. Nanociências, nanotecnologias e políticas públicas no Brasil. **XIX SemeAD**, p. 1-17, 2011,.

SHARMA, B. R.; KUMAR, V.; SONI, P. L.; Ceric ammonium nitrate-initiated graft copolymerization of acrylamide onto cassia tora gum. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 86, p. 3250-3255, 2002.

SHELMA R., PAUL W., SHARMA C., Development and characterization of self-aggregated nanoparticles from anacardoylated chitosan as a carrier for insulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 285–290, 2010.

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**, v. 344, p. 1197-1204, 2009.

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**, v. 344, p. 1197-1204, 2009.

SHUTAVA, T.; BALKUNDI, S.; VANGALA, P.; STEFFAN, J.; BIGELOW, R.; CARDELLI, J.; O'NEAL, D.; LVOV, Y. Layer-by-Layer-Coated Gelatin Nanoparticles as a Vehicle for Delivery of Natural Polyphenols. **ACS Nano**, v. 3, p. 1877–1885, 2009.

SILVA D.A, BRITO A.C.F., de 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. 229-236, 2004.

SILVA, A. G.; FERNANDES K. F.; Composição química e antinutrientes

presentes nas amêndoas cruas e torradas de chichá. **Revista de Nutrição**, v. 2, p. 305-314, 2011.

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

SILVA, D. B.; SILVA JA, JUNQUEIRA NTV, ANDRADE LRM. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa, 2001.

SINGH B., SHARMA N., Development of novel hydrogels by functionalization of sterculia gum for use in anti-ulcer drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 489-497, 2008.

SINHA, V. R.; SINGLA, A. K.; WADHAWAN, S.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, p. 1-33, 2004.

SJOBLOM B. **Method to obtain microparticles**. US Patent n. 20046753014, 22 de junho de 2004.

SMIDSRØD, O. Solution properties of alginate. **Carbohydrate Research**, v. 13, p.359-372, 1970.

SMIDSRØD, O.; HAUG, A. Estimation of relative stiffness of the molecular chain in polyelectrolytes from measurements of viscosity at different ionic strengths. **Biopolymers**, v. 10, p.1213-1227, 1971.

SMIDSRØD, O.; HAUG, A.; Precipitation of acidic polysaccharides by salts in ethanol–water mixtures. **Journal of Polymers Science**, v. 16, p.1587

SMITH, J. K.; MENGER, M.; CARRION, M.; BUTMAN, B. A Dynamic Light Scattering (DLS) Assay for the Analysis of Aggregated Adenovector Particles. **GenVec, Inc., Gaithersburg, MD 20878**.

SOM, C.; WICK, P.; KRUG, H.; NOWACK, B. Environmental and health effects of nanomaterials in nanotextiles and façade coatings. **Environment International**, v. 37, p. 1131-1142, 2011.

SORLIER, P.; DENUZIERE, A.; VITON, C.; DOMARD, A. Relation between the degree of acetylation and the electrostatic properties of chitin and chitosan. **Biomacromolecule**, v. 2, p. 765-772, 2001.

SOUSA, A.; Echevarria, A.; Sant'Anna, C.; Nascimento, M. Estudo experimental e teórico da redução de bases de Schiff derivadas da 3,3-difenilpropilamina. **Quimica Nova**, v. 27, p. 72-75, 2004.

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, p.

11475-11482, 2011.

STEPHEN, A. M.; CHURMS, S. C. Gums and mucilages. In **A. M. Stephen (Ed.), Food polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker, p. 398–399, 1995.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal**, v. 7, p. 12-20, 2006.

SWARBRICK, J. **Encyclopedia of pharmaceutical technology**, vol. V, 3rd ed., Informa Health Care, New York, p. 3108-3127, 2007.

TAKURA, Y.; HASHIDA, M. **Critical Reviews Oncol. Hematol.** v. 18, p. 207, 1995.

TANG, E. S. K.; LIM, H. L. Y. Ultrasonication of chitosan and chitosan nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 265, p. 103–114, 2003.

TANG, M., DOU, H., SUN, K. One-step synthesis of dextran-based stable nanoparticles assisted by self-assembly. **Polymer**, v. 47, p. 728-734, 2006.

TAVARES, I. S.; CARONI, A. L.; DANTAS NETO, A. A.; PEREIRA, M. R.; FONSECA, J. L. Surface charging and dimensions of chitosan coacervated nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 90, p. 254– 258, 2012.

TECHNICAL note, **Measuring Zeta Potential – Laser Doppler Electrophoresis**. Em: <http://www.malvern.com>. Acesso em março 2009b.

TECHNICAL note, **Zeta Potential An Introduction in 30 Minutes**. Em: <http://www.malvern.com>. Acesso em março 2009a.

TERAMOTO, N.; SHIBATA, M. Synthesis and properties of pullulan acetate. Thermal properties, biodegradability, and a semi-clear gel formation in organic solvents. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 476-481, 2006.

TRACY, J.W.; WEBSTER JÚNIOR, L.T. Fármacos usados no tratamento das protozooses: malária. In: Goodman & Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9 ed, Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. cap.40, p.709-724.

TRIPATHY, J.; MISHRA, D. K.; YADAV, M.; BEHARI, K. Synthesis, characterization and applications of graft copolymer (Chitosan-g-N,N-dimethylacrylamide). Polymer Science, **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 40–46, 2010.

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. **Macromoleculer**

Bioscience, v. 11, p. 680-688, 2011.

VEELAERT, S., DE WIT, D., GOTLIEB, K. F., VERHÉ, R., The gelation of dialdehyde starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, 131-139, 1997.

VINOGRADOV, S.V.; BRONICH, T.K.; KABANOV, A.V. Nanosize cationic hydrogels for drug delivery: preparation, properties and interaction with cells. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 135-147, 2002.

WANG, F-Q., LI, P.; ZHANG, J-P.; WANG, A-Q.; WEI, Q. pH-sensitive magnetic alginate-chitosan beads for albendazole delivery. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, p. 228-236, 2011.

WANG, Q.; JAMAL, S.; DETAMORE, M. S.; BERKLAND, C. PLGA-chitosan/PLGA-alginate nanoparticle blends as biodegradable colloidal gels for seeding human umbilical cord mesenchymal stem cells. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 96, p. 520–527, 2011.

WHO Global Malaria Programme, *World Malaria Report*, **World Health Organization**, Geneva, 2010.

WINSTANLEY, P.O. Modern chemotherapeutic options for malaria. **Lancet, Amsterdam**, v.1 p. 242-250, 2001.

WUOLIJOKI, E.; HIRVELÄ, T.; YLIATO, P. Decrease in serum LDL cholesterol with microcrystalline chitosan. *Methods Findings in Experimental and Clinical Pharmacologic*, v. 21, p. 357-361, 1999.

XIA, B.; HA, W.; MENG, X-W.; Govender, T.; Peng, S-L.; Ding, L-S.; LI, B-J.; ZHANG, S. Preparation and characterization of a poly(ethylene glycol) grafted carboxymethyl konjac glucomannan copolymer. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 648–654, 2010.

XINMING, L, YINGDE, C, LLOYD, A, MIKHALOVSKY, S, SANDEMAN, S, HOWEL, C and LIEWEN, L (2008) *Polymeric hydrogels for novel contact lens-based ophthalmic drug delivery systems: A review* Contact Lens and Anterior Eye, 31 (2). p. 57.

YEH, M-K.; CHENG, K-M.; HUB, C-S.; HUANG, Y-C.; YOUNG, J-J. Novel protein-loaded chondroitin sulfate–chitosan nanoparticles: Preparation and characterization. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 3804–3812, 2001.

YENILMEZ, E. ; BAŞARAN, E.; YAZAN, Y. Release characteristics of vitamin E incorporated chitosan microspheres and *in vitro–in vivo* evaluation for topical application. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 807-811, 2011.

YEO, Y.; BAEK, N.; PARK, K.; Microencapsulation Methods for Delivery of Protein Drugs. *Biotechnology Bioprocess Engineering*, v. 6, p. 213-230, 2001.

YIN, L.; DING, J.; HE, C.; CUI, L.; TANG, C.; YIN, C. Drug permeability and

mucoadhesion properties of thiolated trimethyl chitosan nanoparticles in oral insulin delivery. **Biomaterials**, v. 30, p. 5691-5700, 2009.

YU, H.; XIAO, C. Synthesis and properties of novel hydrogels from oxidized konjac glucomannan crosslinked for in vitro drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 479-489, 2008.

ZETASIZER nano series. **User manual**, 3 ed. Malvern Instrument. England, 2005.

ZHANG, H. F.; ZHONG, H.; ZHANG, L. L.; CHEN, S. B.; ZHAO, Y. J.; ZHU, Y. L. Synthesis and characterization of thermosensitive graft copolymer of N-isopropylacrylamide with biodegradable carboxymethylchitosan. **Carbohydrate Polymer**, v. 77, p. 785- 790, 2009.

ZHANG, L.-L.; LI, P.; LI, Y.-M.; WANG, A.-Q. Preparation and characterization of magnetic alginate-chitosan hydrogel beads loaded matrine. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, doi: 10.3109/03639045.2011.630397, 2011b.

ZHANG, N.; LI, J.; JIANG, W.; REN, C.; LI, J.; XIN, J.; LI, K. Effective protection and controlled release of insulin by cationic beta-cyclodextrin polymers from alginate/chitosan nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 393, 212–218, 2010.

ZHANG, W.; GILSTRAP, K.; WU, L.; BAHADUR, R.; MOSS, M.; WANG, Q.; LU, X.; HE, X. Synthesis and Characterization of Thermally Responsive Pluronic F127-Chitosan Nanocapsules for Controlled Release and Intracellular Delivery of Small Molecules. **ACS Nano**, v. 4, p. 6747–6759, 2010.

ZHANG, Y.; WEI, W.; LV, P.; WANG, L.; MA, G. Preparation and evaluation of alginate–chitosan microspheres for oral delivery of insulin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 77, p. 11–19, 2011a.

ZHU, Y. **Properties of polymeric drug delivery systems prepared by hot-melt extrusion**. 2002. Tese (Doutorado)- Faculty of the Graduate School of the University of Texas, Austin, 2002.