



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS**  
**MATERIAIS**

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO**  
**ACETILADA COM INCORPORAÇÃO DE TAMOXIFENO PARA O**  
**TRATAMENTO DE QUELOIDE**

**Karolina Carneiro Morais de Macedo**  
**Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**  
**Prof<sup>a</sup>. Dra. Durcilene Alves da Silva**

**Teresina - Piauí**

**2015**

**KAROLINA CARNEIRO MORAIS DE MACEDO**

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA  
COM INCORPORAÇÃO DE TAMOXIFENO PARA O TRATAMENTO DE  
QUELOIDE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito complementar à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**

**CO-ORIENTADOR: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Durcilene Alves da Silva**

**Teresina-Piauí**

**2015**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello  
Branco Serviço de Processamento Técnico

M141o Macedo, Karolina Carneiro Morais de.  
Obtenção de nanopartículas de goma do cajueiro  
acetilada com incorporação de tamoxifeno para o  
tratamento de queiloide / Karolina Carneiro Morais de  
Macedo. – 2016.

79 f.

Mestrado – Programa de Pós Graduação em Ciência dos  
Materiais, Universidade Federal do Piauí, 2016.

“Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho”.

1. Nanopartículas. 2. Goma do Cajueiro Acetilada.  
3. Diálise. I. Silva, Durcilene Alves da. II. Título.

CDD: 617.695

**KAROLINA CARNEIRO MORAIS DE MACEDO**

**Obtenção de Nanopartículas de Goma do Cajueiro Acetilada com Incorporação de Tamoxifeno para o Tratamento de Queloides**

Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Materiais.

**Aprovada em: 29/07/2015**

**Banca Examinadora:**



---

**Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho**  
Universidade Federal do Piauí  
Orientador



---

**Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva**  
Universidade Federal do Piauí  
Coorientadora



---

**Prof. Dr. Lívio Cesar Cunha Nunes**  
Universidade Federal do Piauí  
Examinador Interno



---

**Profa. Dra. Pablyana Leila Rodrigues Da Cunha**  
Universidade Federal de Ceará  
Examinadora Externa

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo amor, carinho e compreensão durante esses anos; aos meus primos, tia e à minha avó; à minha mãe, Sulamita, e ao meu pai, Macedo, desejo reafirmar que sempre, tudo, foi por vocês.

Agradeço ainda à minha tia Graça e à Sofia pela torcida e força, mesmo à distância e às amigas Mayara e Thayrine pela deliciosa companhia de sempre.

Agradeço ao Prof. Leonardo Fraceto, da UNESP de Sorocaba, e ao seu grupo de pesquisa, especialmente à Paulinha e Jhones, pelo acolhimento e solicitude e ao laboratório e amigos do BIOTEC pelo suporte.

Agradeço ao Prof. Antonio Ribeiro e ao Prof. Veiga, da Faculdade de Farmácia de Coimbra, pela simpatia e pelos conhecimentos transmitidos.

Agradeço ao Prof. Humberto do Departamento de Microbiologia da UFPI pelo auxílio nos experimentos e disposição para ajudar.

Agradeço ainda à Prof. Durcilene pela orientação e amizade e ao meu orientador Prof. Edson também pela orientação e, sobretudo, pelas oportunidades e confiança.

Agradeço à Sávvia, Alyne e à Nara por toda ajuda, amizade e bom humor.

Por fim, agradeço à família LIMAV com especial carinho àqueles que dividiram comigo o dia-a-dia, transformando a minha rotina em momentos bastante divertidos e agradáveis.

Vocês também podem contar comigo: Sol, Elton, Alessandra, Fran, Layane, Michele, Idglam, Raimundo, Alan Jones, Fabrícia, Kilson e Kelson, muito obrigada.

What would you think if I sang out of tune  
Would you stand up and walk out on me  
Lend me your ears and I'll sing you a song  
And I'll try not to sing out of key

I get by with a little help from my friends  
I get high with a little help from my friends  
Gonna try with a little help from my friends

...

The Beatles

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE TABELAS .....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	vii
RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
REFERÊNCIAS .....	03
<b>2. CAPÍTULO 1: PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA: NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO EM APLICAÇÕES BIOMÉDICAS .....</b>	<b>06</b>
RESUMO .....	08
ABSTRACT .....	09
1 INTRODUÇÃO .....	10
2 METODOLOGIA .....	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	15
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	26
5 REFERÊNCIAS .....	27
<b>3. CAPÍTULO 2: OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA COM INCORPORAÇÃO DE TAMOXIFENO PARA O TRATAMENTO DE QUELOIDE .....</b>	<b>32</b>
RESUMO .....	34
ABSTRACT .....	35
1 INTRODUÇÃO .....	36
2 PARTE EXPERIMENTAL .....	41

2.1 MATERIAIS E REAGENTES.....	41
2.2 PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA	41
2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS .....	43
2.3.1 ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO .....	43
2.3.2 ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO.....	43
2.3.3 POTENCIAL ZETA.....	43
2.3.4 QUANTIDADE DE FÁRMACO INCORPORADO E EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO.....	44
2.3.4.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO .....	44
2.3.5 ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA .....	47
2.3.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO POR ANÁLISE POR RASTREAMENTO DE PARTÍCULA .....	47
2.3.7 ESTUDO DA ESTABILIDADE COLOIDAL .....	48
2.4 ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANOS .....	49
2.4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA CONTRA CEPAS DE <i>STAPHYLOCOCCUS</i> <i>AUREUS</i> , <i>ESCHERICHIA COLI</i> E <i>CANDIDA ALBICANS</i> .....	49
2.4.1.1 LINHAGENS BACTERIANAS .....	49
2.4.1.2 TESTE DE CONTATO DIRETO .....	49
2.4.1.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOSSENSIBILIZANTE.....	50
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	52
3.1 CARACTERIZAÇÕES.....	52
3.1.1 ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO, POTENCIAL ZETA E ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO .....	52
3.1.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA .....	58

3.1.3 ANÁLISE POR RASTREAMENTO DE PARTÍCULA .....	60
3.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	62
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>70</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>71</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>79</b>
<b>7 PERPECTIVAS.....</b>	<b>80</b>

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO 1**

Figura 1: Exsudato coletado do tronco da árvore de caju .....	11
Figura 2: Composição estrutural de um fragmento de goma do cajueiro .....	12
Figura 3: Número de publicações de artigos por ano utilizando como termo de busca “cashew gum”, na plataforma Scopus .....	17
Figura 4: Classificação dos artigos quanto ao tema predominante.....	19
Figura 5: País de origem dos artigos publicados no Scopus utilizando como termo de busca “cashew gum” .....	22

### **CAPÍTULO 2**

Figura 1: Estrutura química do tamoxifeno .....	23
Figura 2: Processo de diálise .....	42
Figura 3: Curva de calibração do tamoxifeno em metanol .....	45
Figura 4: Distribuição de tamanho das nanopartículas preparadas com acetona (A) Controle e (B) Com TMX .....	55
Figura 5: Distribuição de tamanho das nanopartículas preparadas com DMSO (A) Controle e (B) Com TMX .....	56
Figura 6: Análise morfológica por microscopia de força atômica de nanopartículas poliméricas de GCA. (A) Sem incorporação de TMX. (B) Após a incorporação do TMX no sistema F1 .....	59
Figura 7: Análise morfológica por microscopia de força atômica de nanopartículas poliméricas de GCA. (A) C2. (B) F2 .....	60

Figura 8. Concentração de nanopartículas em função do tamanho, obtidas com acetona; A) C2; B) F2 .....	61
Figura 9: Concentração de nanopartículas em função do tamanho, obtidas com DMSO; A) C1; B) F1 .....	61
Figura 10: Representação do teste de contato direto em <i>E. coli</i> .....	66
Figura 11: Representação do teste de contato direto com <i>C. albicans</i> .....	66
Figura 12: representação do teste de contato direto com <i>S. aureus</i> .....	67
Figura 13: Teste de difusão em disco em <i>S. aureus</i> .....	68

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1 Número de publicações por termo pesquisado nas plataformas de busca de artigos e patentes .....	16
Tabela 2 Agrupamento quanto à classificação internacional de patentes .....	24

### CAPÍTULO 2

Tabela 1 Concentração e referente absorvância no comprimento de onda 278,21 utilizados para a construção da curva de calibração .....	44
Tabela 2 Caracterização das nanopartículas de CGA e CGA-TMX em relação á tamanho, índice de polidispersão, potencial zeta e concentração de partícula .....	53
Tabela 3 Medidas de potencial zeta das amostras. (1) Janeiro/2015. (2). Junho/15 .....	56
Tabela 4 Relação entre dados de caracterização e efeito inibitório .....	64
Tabela 5 Efeito inibitório em relação a <i>S. aureus</i> .....	69
Tabela 6 Efeito inibitório em relação a <i>C. albicans</i> .....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ARP	Análise de Rastreamento de Partícula
<i>C. albicans</i>	<i>Candidaalbicans</i>
DLD	Difração de Luz Dinâmica
DMSO	Dimetilsulfóxido
EF%	Eficiência de Incorporação
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
G	Gramma
GCA	Goma de Cajueiro Acetilada
ha	Ectares
INPI	Instituto Nacional de Propriedde Industrial
USPTO	United States Patent and Trademark Office
INPI	Instituto Nacional de Propriedde Industrial
kDa	Quilodalton
LIMAV	Laboratório Interdisciplinar de MAteriais Avançados
μL	Microlitros
mL	Mililitro
NP	Nanopartícula
USPTO	United States Patent and Trademark Office

## RESUMO

A goma de cajueiro representa um heteropolissacarídeo extraído do tronco da árvore *Anacardium occidentale* L. e se caracteriza como um biomaterial que possui propriedades cicatrizantes, baixa toxicidade, biodegradabilidade e apresenta reduzido custo de obtenção. Nesse sentido, a proposta do trabalho é obter nanopartículas de goma do cajueiro acetilada e avaliar a sua capacidade de incorporar o tamoxifeno (TMX), além de avaliar o potencial desse sistema contra microorganismos. As nanoestruturas foram obtidas pela técnica de diafiltração onde foi utilizado como solvente inicial, durante o processo de síntese, 20 mL de acetona ou de dimetilsulfóxido (DMSO). A proporção utilizada, em massa, de polímero e fármaco foi de 10:1 para todos os sistemas. Através da técnica de difração de luz dinâmica verificou-se que o tamanho médio de partículas variou entre  $202,2 \pm 0,7$  nm e  $81,3 \pm 0,1$  nm. O potencial zeta mostrou-se negativo para todos os sistemas e se manteve estável após cinco meses. O índice de polidispersão manteve-se inferior a 0,2 para todas as amostras. A eficiência de incorporação apresentou valores de 34,7% no sistema com acetona e de 37,7%, quando o DMSO foi utilizado como solvente inicial. A análise morfológica foi realizada através da técnica de microscopia de força atômica, onde foi possível observar o formato esférico das nanopartículas e a presença de TMX na sua matriz, quando a acetona foi utilizada para a síntese. Por fim, a concentração de partículas nas amostras, evidenciada através da análise do rastreamento de partículas, apresentou valores entre  $1,19 \pm 0,09 \times 10^9$  e  $0,81 \pm 0,01 \times 10^9$  partículas/mL nos sistemas com o fármaco em DMSO e acetona, respectivamente. Testes microbiológicos realizados com os microorganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* mostraram eficácia do sistema contra o fungo e a bactéria Gram-positiva, reduzindo o crescimento de colônias em até 66,9% para o sistema em acetona.

**Palavras-chave:** nanopartícula, goma do cajueiro acetilada, diálise.

## ABSTRACT

The cashew gum is a heteropolysaccharide extracted from the trunk of *Anacardium occidentale* L. tree and a biomaterial is characterized as having healing properties, low toxicity, biodegradability and has reduced cost of obtaining. In this sense, the purpose of this study is to obtain gum nanoparticles of acetylated cashew gum and evaluate its ability to incorporate tamoxifen (TMX), and to evaluate the potential of this system against microorganisms. The nanostructures were obtained by diafiltration technique which was used as starting solvent during the synthesis process, 20 ml of acetone or dimethylsulfoxide (DMSO). The used proportion by weight of polymer and drug was 10: 1 for all systems. Through dynamic light diffraction technique it was found that the average particle size ranged from  $202.2 \pm 0.7$  nm and  $81.3 \pm 0.1$  nm. The zeta potential was negative for all systems and is stable after five months. The polydispersity index remained below 0.2 for all samples. The incorporation efficiency values presented in the system with 34.7% acetone and 37.7% when DMSO was used as the initial solvent. Morphological analysis was performed using the technique of atomic force microscopy, where we observed the spherical shape of the nanoparticles and the presence of TMX in the matrix, when acetone was used for the synthesis. Finally, the concentration of particles in the sample, as evidenced by nanoparticle tracking analysis varied from  $1.19 \pm 0.09 \times 10^9$  and  $0.81 \pm 0.01 \times 10^9$  particles / ml in the systems with the drug in DMSO and acetone, respectively. Microbiological tests conducted with the microorganism *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* shown efficacy against fungi and Gram-positive bacteria, reducing the growth of colonies by up to 66.9% for the system in acetone.

**Keywords:** nanoparticle, acetylated cashew gum, dialysis.

## 1. INTRODUÇÃO

A goma de cajueiro é um heteropolissacarídeo extraído do tronco da árvore *Anacardium occidentale* L. Esse vegetal é original do Brasil e encontra-se vastamente difundido pelo nordeste do país, principalmente nos estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte. Essa região é responsável por 95% da produção nacional da castanha, um dos seus principais derivados. (Lima, et al. 2011; Paiva, Barros, & Cavalcanti, 2009).

O extrato retirado do tronco da árvore funciona como um mecanismo de defesa da planta contra agentes agressores sejam eles físicos ou químicos. As pesquisas envolvendo aplicações para essa goma, retirada do cajueiro, apontam para o futuro promissor que esse biomaterial apresenta, por apresentar características cicatrizantes, antimicrobiana, biodegradáveis, baixa toxicidade, além de possuir reduzido custo de obtenção. A goma do cajueiro apresenta aplicações diversas na indústria alimentícia atuando como agente espessante e gelificante, por exemplo. Além disso, também é utilizada como agente aglutinante de comprimidos e cápsulas na indústria farmacêutica (Cunha, de Paula, & Feitosa, 2009; Schirato, et al. 2006; Campos, et al. 2012; Paula, et al. 2011; Kumar, et al. 2012).

Apesar de apresentar características favoráveis à sua utilização como biomaterial, a goma do cajueiro é solúvel em água, o que dificulta a sua manipulação quando se trata da síntese de nanopartículas. Felizmente esse polissacarídeo pode ser modificado, com tratamento químico, a fim de alterar a sua polaridade. Assim, grupos hidrofóbicos podem ser covalentemente ligados ao polissacarídeo como, por exemplo, no processo de acetilação. Nanopartículas de goma do cajueiro acetilada (GCA) são eficazes para a liberação controlada de fármacos, como por exemplo, a indometacina (Pitombeira, et al. 2015).

O tamoxifeno, apesar de possuir eficácia comprovada no tratamento do câncer de mama, apresenta potencial terapêutico para outras patologias por possuir propriedade antifúngica, atividade contra leishmania além de se mostrar eficaz no tratamento de fibrose, cicatrizes hipertróficas e queiloide. O mecanismo de ação do tamoxifeno nessas condições ainda não foi completamente elucidado, no entanto, as pesquisas sugerem que essa droga atue sobre o fator de transformação do crescimento presente nas células, responsável por promover a proliferação e diferenciação celular (Karaca, et al. 2013; Dolan, et al. 2009; Gragnani, et al. 2010; Mikulec, et al. 2001; Miguel, et al. 2007).

Nesse sentido, a proposta do trabalho é formar nanopartículas de goma do cajueiro modificada através de uma reação de acetilação, a fim de aumentar o seu caráter hidrofóbico, e avaliar a sua capacidade de incorporar o tamoxifeno. Além disso, observar o seu potencial microbiológico em testes contra *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*.

## REFERÊNCIAS

Campos, D. A., Ribeiro, A. C., Costa, E. M., Fernandes, J. C., Tavarina, F. K., Araruna, F. B., Eiras, C., Eaton, P., Leite, J. R. S. A., & Pintado, M. M. (2012). Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. *Carbohydrate Polymers*, 90, 270-274.

Cunha, P. L. R., de Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2009). Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova*, 3, 649-660.

Dolan, K., Montgomery, S., Buchheit, B., DiDone, L., Wellington, M., & Krysan, D. J. (2009). Antifungal Activity of tamoxifen: in vitro and in vivo activities and mechanistic characterization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 3337-3346.

Gragnani, A., Warde, M., Furtado, F., & Ferreira, L. M. (2010). Topical tamoxifen therapy in hypertrophic scars or keloids in burns. *Archives of Dermatological Research*, 302, 1-4.

Karaca, T., Gözalan, A. U., Yoldaş, O., Bilgin, B. Ç., & Tezer, A. (2013). Effects of tamoxifen citrate on postoperative intra-abdominal adhesion in a rat model. *International Journal of Surgery*, 11, 68-72.

Kumar, A., Moin, A., S. R., Ahmed, A., & Shivakumar, H. G. (2012). Cashew gum a versatile hydrophilic polymer: a review. *Current Drug Therapy*, 7, 2-12.

Lima, A. C., dos Santos, R. A., Almeida, F. A. G., & Bandeira, C. T. (2001). Estimulantes químicos na extração da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Ciência Rural*, 31, 409-415.

Miguel, D. C., Yokoyama-Yasunaka, J. K. U., Andreoli, W. K., Mortara, R. A., & Uliana, S. R. B. (2007). Tamoxifen is effective against *Leishmania* and induces a rapid alkalization of parasitophorous vacuoles harbouring *Leishmania (Leishmania) amazonensis* amastigotes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 526-534.

Mikulec, A. A., Hanasono, M. M., Lum, J., Kadleck, J. M., Kita, M., & Koch, J. (2001). Effect of tamoxifen on the transforming growth factor  $\beta_1$  production by keloid and fetal fibroblasts. *Archives of Facial Plastic Surgery*, 3, 111-114.

Paula, H. C. B., Sombra, F. M., Cavalcante, R. F., Abreu, F O. M. S., & de Paula, R. C. M. (2011). Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoids* essential oil, 31, 173-178.

Paiva, J. R., Barros, L. M., & Cavalcanti, J. J. V. (2009). *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, Springer, (Chapter 9).

Pitombeira, N. A. O., Neto, J. G. V., Silva, D. A., Feitosa, F. P. A., Paula, H. C. B. & Paula, R. C. (2015). Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: characterization and evaluation as potential drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, 117, 610-615.

Schirato, G. V., Monteiro, F. M. F., Silva, F. O., Filho, J. L. L., Leão, A. M. A. C., & Porto, A. L. F. (2006). O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas, 36, 149- 154.

## **CAPÍTULO 1: ESTUDO PROSPECTIVO**

**NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO EM APLICAÇÕES BIOMÉDICAS:  
UM ESTUDO PROPECTIVO**

*Karolina Carneiro Morais de Macedo<sup>1</sup>, Edson Cavalcanti da Silva Filho<sup>1</sup>, Durcilene Alves da  
Silva<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais,  
Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados- LIMAV*

## RESUMO

Pesquisas que envolvem a nanotecnologia apresentam destaque no ambiente acadêmico, por se tratar de uma área relativamente nova, porém com grande potencial de desenvolvimento. A proposta inovadora da nanotecnologia se baseia na capacidade de produção de novos materiais, com dimensões diminutas, que conseguem aliar propriedades previamente selecionadas de materiais já existentes, a fim de potencializar seus efeitos ou diversificar suas características. Polímeros naturais vem se destacando nesse sentido, pois são substâncias versáteis e de fácil manipulação. A goma do cajueiro representa um biopolímero natural extraído do tronco da árvore *Anacardium occidentale* L., um vegetal amplamente difundido no Nordeste do Brasil. Aplicações nanotecnológicas que envolvem a utilização de goma do cajueiro já podem ser encontradas em pesquisas que envolvem liberação controlada de fármacos, desenvolvimento de sensores e aplicações nas indústrias agrícola e alimentícia. Assim, objetivo desse estudo foi realizar uma prospecção nas principais bases de dados de artigos e patentes, a fim de observar como a nanotecnologia vem sendo empregada na área biomédica. Foram analisados documentos publicados nos últimos 10 anos nas plataformas Scielo, Scopus, INPI, USPTO e Espacenet. Em geral, ainda são poucas as publicações referentes à goma do cajueiro. O Brasil apresenta o maior volume de artigos e patentes nesse sentido, no entanto, a Índia domina o ranking no que diz respeito à liberação controlada de fármacos utilizando esse polissacarídeo.

**Palavras-chave:** nanotecnologia, goma do cajueiro, liberação controlada de drogas.

## ABSTRACT

Research involving nanotechnology have featured in the academic environment, because it is a relatively new area, but with great potential for development. The innovative proposal is based on nanotechnology materials of new production capacity with diminute dimensions, which can combine preselected properties of existing materials to enhance their effect or to diversify their characteristics. Natural polymers has been outstanding in this sense, they are versatile and easy to handle substances. The cashew gum is a natural biopolymer extracted from the trunk of the tree *Anacardium occidentale* L., a plant widespread in Brazil Northeast. Nanotechnological applications involving the use of cashew gum already found in studies involving the controlled release of drugs, development of sensors and applications in the agricultural and food industries. Aim of this study was to survey the main bases of articles and patent data in order to observe how nanotechnology has been used in the biomedical field. Documents were analyzed published in the last 10 years in Scielo platform, Scopus, INPI, USPTO and Espacenet. In general, there are few publications related to the cashew gum. Brazil has the largest number of articles and patents that direction however, India dominates the ranking with respect to the controlled release of pharmaceuticals using this polysaccharide.

**Key-Words:** nanotechnology, cashew gum and controlled drug release

## 1. INTRODUÇÃO

Desde 1959, após o discurso de Richard Feynman na Sociedade Americana de Física, despertou-se o interesse pelo estudo das nanopartículas. Pela primeira vez na história, Feynman levantou a possibilidade de miniaturização da matéria. Em seu discurso ele defendeu que é possível manipular, controlar e fabricar objetos em escala muito pequena e que esses são regidos por novos tipos de forças e, por isso, apresentam novas características. Nessa ocasião, Feynman construiu os pilares do que viria a ser a nanotecnologia. No entanto, apenas no começo dos anos de 1980, com o desenvolvimento da microscopia de tunelamento por Gerd Binnig e Heinrich Rohrer, o que lhes rendeu o prêmio Nobel de Física em 1986, os estudos em nanotecnologia se intensificaram (Barkalina, et al. 2014).

Atualmente, é possível obter nanopartículas constituídas pelas mais diversos materiais e aplicáveis para os mais diversos fins. A utilização de nanopartículas poliméricas para encapsulação de fármacos constitui uma vertente promissora e inovadora nesse sentido.

A goma obtida do cajueiro é um biopolímero natural, extraído a partir do exudato do tronco da árvore *Anacardium occidentale* L.(Figura 1). Esse vegetal é originário do Brasil e foi introduzido no sudeste da Índia pelos portugueses no século XVI. A partir disso, houve a difusão para o subcontinente indiano e rapidamente se espalhou pelo sudeste asiático. Atualmente é vastamente encontrado na Índia, Brasil, Tanzânia, Moçambique e no Quênia, países de clima tropical e subtropical, que apresentam características climáticas favoráveis para o seu cultivo: pluviosidade pouco densa e presença de período de estiagem entre as estações chuvosas. Além dos países citados anteriormente, a Nigéria também é um importante produtor de goma do cajueiro.

O Brasil apresenta uma região de cultivo que ocupa aproximadamente 710.404 ha, localizada principalmente nos estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte. O nordeste é responsável por 95% da produção nacional de derivados do cajueiro. (Lima, et al. 2001; Paiva, Barros, & Cavalcanti, 2009).

Figura 1. Exsudato coletado do tronco da árvore de caju.



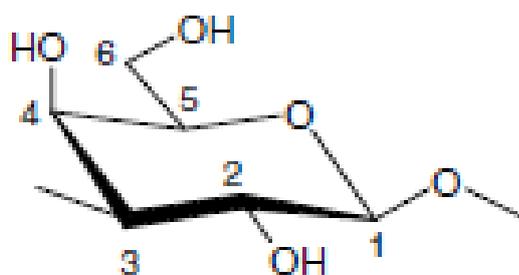
Fonte: Andrade et al. (2013)

Gomas são substâncias poliméricas de alta massa molar, hidrofílicas, que quando em contato com solventes apropriados, mesmo em baixas concentrações, são capazes de formar dispersões ou soluções altamente viscosas, como géis. Além disso, são inodoras, insípidas e não tóxicas. As gomas naturais são obtidas a partir do exsudato de árvores, sementes, algas ou por fermentação microbológica. As modificações são realizadas a fim de alterar ou aprimorar alguma propriedade desse material. O exsudato dos vegetais funciona como um mecanismo de defesa contra agressões físicas ou biológicas. Geralmente são heteropolissacarídeos complexos, ramificados e polidispersos, cujo fragmento pode ser observado na figura 2 (Cunha, de Paula, & Feitosa, 2009).

Os polissacarídeos provenientes da extração vegetal são empregados na indústria alimentícia e farmacêutica, por exemplo, pois podem atuar como emulsificantes,

espessantes, gelificantes, estabilizantes e aglutinantes. A goma do cajueiro é um heteropolissacarídeo composto por unidades galactose (72%), arabinose (4,6%), glucose (14%), raminose (3,2%) e ácido urônico (4,7%). Esse material apresenta propriedades que favorecem a sua utilização na área biomédica como baixa toxicidade, propriedade cicatrizante, capacidade biodegradável além de ser economicamente viável devido ao baixo custo da sua obtenção (Lima, et al. 2011; Rodrigues, de Paula, & Costa, 1993; Oliveira, Paula, & de Paula, 2014; Paula, et al. 2011; Schirato, et al. 2006).

Figura 2. Composição estrutural de um fragmento de goma do cajueiro.



Fonte: Silva et al. (2006)

A utilização de nanopartículas obtidas a partir de polissacarídeos para aplicação em liberação de fármacos é um campo científico que vem crescendo desde a última década. Esse sistema pode ser aplicado através da via de administração oral, transdérmica, por sondas neurais ou através de microchips, por exemplo (Abreu, et al. 2012; Lopes, et al. 2014; Gurman, et al. 2015).

Devido a diversidade de informações referentes a goma do cajueiro e levando em consideração o potencial econômico desse material, o objetivo desse estudo foi realizar uma prospecção através da busca por artigos e patentes a fim de observar como a nanotecnologia vem sendo empregada na área biomédica.

## 2. METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa dos termos selecionados como relevantes para demonstrar a importância de pesquisas nesse sentido. Dessa forma, a busca por artigos foi realizada nas plataformas Scielo, Scopus e Web of Science. Além disso, foram utilizados os mesmos termos para direcionar a procura por patentes nos domínios: Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), United States Patent and Trademark Office (USPTO) e Espacenet, englobando os depósitos do Brasil, dos Estados Unidos e da Europa, respectivamente. A pesquisa foi realizada entre os dias 12 e 14 de maio de 2015. Os termos utilizados em todos os domínios de busca citados anteriormente foram escritos em inglês e correspondem a:

1. Goma do cajueiro
2. Goma do cajueiro e modificada
3. Goma do cajueiro e acetilada
4. Nanopartículas e goma do cajueiro
5. Nanopartículas e goma do cajueiro e modificada
6. Nanopartículas e goma do cajueiro e acetilada
7. Goma do cajueiro e liberação de droga
8. Goma do cajueiro e modificada e liberação de droga
9. Goma do cajueiro e acetilada e liberação de droga
10. Nanopartículas e goma do cajueiro e liberação de droga
11. Nanopartículas e goma do cajueiro e modificada e liberação de droga
12. Nanopartículas e goma do cajueiro e acetilada e liberação de droga

Os dados referentes a essa pesquisa são encontrados na Tabela 1.

Na plataforma de pesquisa por artigos científicos Scopus, os termos selecionados foram procurados utilizando como refinamento de busca sua localização no título,

resumo ou nas palavras-chave do artigo. Além disso, foram considerados apenas artigos publicados a partir do ano de 2005 até o mês de maio de 2015. No site de busca Scielo, foram procurados todos os artigos indexados utilizando os termos previamente selecionados no idioma português e inglês. Os critérios de busca na plataforma Web of Science incluíram artigos publicados no idioma inglês entre os anos de 1945 e 2015, onde a pesquisa pelos termos de busca encontravam-se no título dos mesmos. A pesquisa realizada no domínio USPTO englobou todos os registros correspondentes às palavras de busca no idioma inglês.

A pesquisa realizada no domínio de busca Espacenet, utilizou as palavras-chave presentes no título ou no resumo das publicações. A busca por patentes depositadas no Brasil foi realizada site do INPI e utilizou como critérios de seleção a presença das palavras-chave no resumo do arquivo. Além disso, o termo foi pesquisado no idioma nativo, português.

Todos os gráficos foram construídos através do programa Origin Pro 8.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram utilizadas 12 combinações diferentes de termos para a realização da prospecção em ambos os mecanismos de busca: artigos e patentes. A procura por termos mais genéricos apresentou um volume maior de publicações em comparação com a pesquisa por expressões mais específicas, que englobam uma combinação maior de palavras.

De acordo com a Tabela 1, 81 artigos foram encontrados quando se utilizou o termo genérico de busca “cashew gum”. No entanto, um dos artigos publicados na plataforma de pesquisa Scopus aparece em duplicata. Além disso, dois artigos foram retirados, provenientes da mesma plataforma, por não apresentar o documento na íntegra, o que impossibilitou inseri-los nas contagens e classificações que se seguem.

As publicações da plataforma Scopus apresentam propostas de aplicações diversificadas, propondo a utilização da goma do cajueiro para os mais diversos fins, como por exemplo, distribuição controlada de fármacos, desenvolvimento de sensores, como conservante na indústria alimentícia e como agente bactericida e fungicida (Zhao, et al. 2014; Araújo, et al. 2012; Puiso, et al. 2014).

Tabela 1. Número de publicações por termo pesquisado nas plataformas de busca de artigos e patentes.

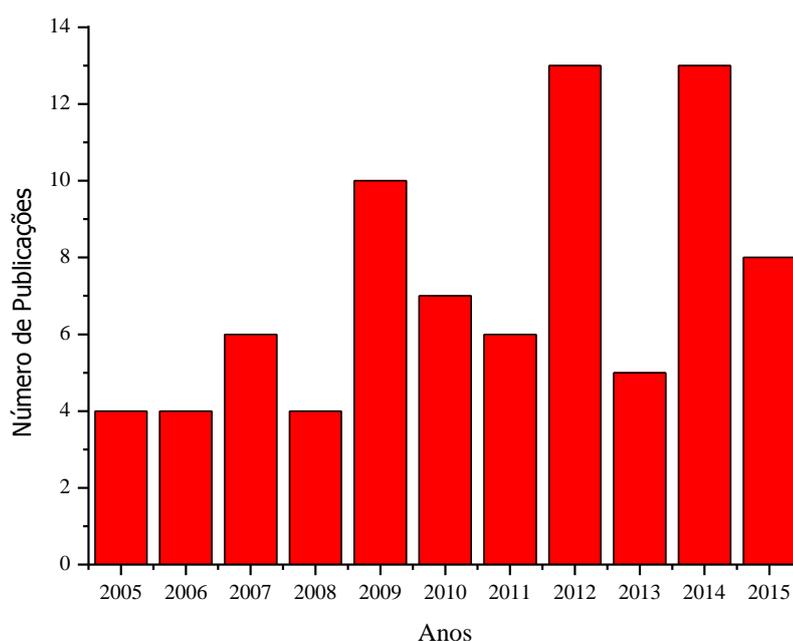
Palavras-chave	ARTIGOS			PATENTES		
	SCOPUS	SCIELO	WEB OF SCIENCE	ESPACENET	USPTO	INPI
cashewgum	81	5	76	0	0	4
cashewgumandmodified	6	0	1	0	0	0
cashewgumandacetilated	1	0	1	0	0	0
nanoparticlesandcashewgum	8	0	6	0	0	0
nanoparticles and cashew gum and modified	0	0	0	0	0	0
nanoparticles and cashew gum and acetilated	1	0	1	0	0	0
cashew gum and drug delivery	14	0	0	0	0	0
cashew gum and modified and drug delivery	3	0	0	0	0	0
cashew gum and acetylated and drug delivery	0	0	0	0	0	0
nanoparticles and cashew gum and drug delivery	3	0	0	0	0	0
nanoparticles and cashew gum and modified and drug delivery	0	0	0	0	0	0
nanoparticles and cashew gum and acetylated and drug delivery	0	0	0	0	0	0

Na plataforma de pesquisa por artigos na base de dados latino-americana Scielo, foram encontrados 5 artigos referentes ao mesmo termo. Esses artigos foram publicados entre os anos de 2006 e 2013. Andrade et al. (2013) escreveu sobre as modificações físicas e químicas por extrusão termoplástica, sugerindo que a goma do cajueiro pode representar uma possibilidade de substituição da goma arábica quando esta é utilizada em aplicações industriais. Foi encontrado, ainda, pesquisas com relevância na área epidemiológica, como o trabalho de Paula et al. (2010) que avaliou o revestimento de esferas de alginato com goma de cajueiro a fim de utilizá-las como larvicida no combate ao vetor da dengue. Outro trabalho interessante avaliou o efeito da goma de cajueiro na fase inflamatória do processo de cicatrização de feridas e concluiu que a aplicação desse material favorece a melhor recuperação do tecido, durante o período

avaliado (Schirato, et al. 2006). Os outros artigos estudaram modificações na goma e suas caracterizações.

Os artigos pesquisados na plataforma de busca por publicações internacionais, Scopus, foram divididos segundo o ano da sua publicação (Figura 3), de acordo com as suas áreas de interesse (Figura 4) e com os países onde foram elaborados (Figura 5).

Figura 3. Número de publicações de artigos por ano utilizando como termo de busca “cashew gum”, na plataforma Scopus.



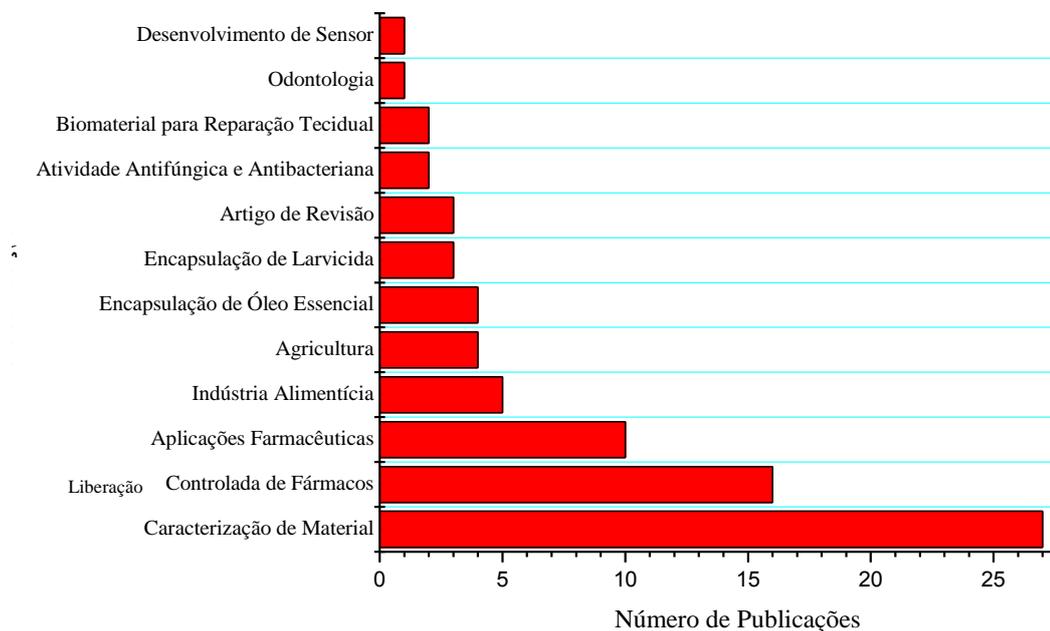
Fonte: Autoria própria (2015)

De acordo com a Figura 6, os anos em que houve maior volume de artigos publicados na plataforma Scopus, utilizando-se o termo de busca cashew gum, foram 2012 e 2014, totalizando 13 documentos, cada. No entanto, pode-se perceber que essa tendência vem crescendo a partir da observação feita acerca do ano de 2015, onde

apenas até o mês de maio, 9 artigos já haviam sido publicados sobre o tema. Uma observação importante diz respeito ao caráter dos temas das publicações que se tornaram cada vez mais específicos com o passar dos anos, indicando a variedade de áreas onde a goma do cajueiro está sendo empregada. Desde a primeira publicação sobre o assunto em 2005, um artigo que trata da avaliação da viscosidade da goma do cajueiro em comparação com a da goma arábica, até o ano de 2007, 12 artigos foram publicados sobre o tema e 66,6% deles são sobre caracterização de materiais. Nos dois anos seguintes, 14 artigos foram encontrados e 78,5% desses estudos já utilizavam como foco dos seus estudos a aplicação da goma de cajueiro em algum sistema na indústria farmacêutica, alimentícia ou agrícola. A partir do ano de 2010 até os dias atuais, houve um acréscimo de 53 publicações na área, sendo que 73,5% delas está relacionada com aplicações tecnológicas.

O aumento do nível de complexidade nas pesquisas envolvendo a goma do cajueiro comprova a sua versatilidade enquanto material. A figura 4 mostra a classificação desses artigos segundo categorias que representam a maior área de abrangência dos mesmos.

Figura 4. Classificação dos artigos quanto ao tema predominante.



Fonte: Autoria própria (2015)

Os artigos foram organizados em categorias de acordo com a predominância dos temas abordados. Foram admitidos artigos na seção Caracterização de Materiais aqueles que apresentavam como temática central, alguma modificação na estrutura da goma e sua respectiva caracterização ou aqueles que se propuseram a utilizá-la em alguma aplicação inovadora. Artigos que apresentam importantes contribuições, no que diz respeito à encapsulação e liberação controlada de drogas, foram agrupados na categoria Liberação Controlada de Fármacos. As classificações Indústria Alimentícia e Agricultura apresentam artigos que discorrem sobre a utilização da goma do cajueiro para favorecer uma maior conservação dos alimentos e sobre a otimização do cultivo do vegetal ou do melhor aproveitamento do mesmo, respectivamente. Os artigos que

tratavam de liberação controlada, porém de substâncias não farmacológicas, foram introduzidos nos grupos Encapsulação de Óleo Essencial ou Encapsulação de Larvicida.

Além desses, ainda há os grupos referentes aos artigos de revisão e outros enquadrados em outras áreas do conhecimento, porém bastante relevantes: Biomaterial para Reparação Tecidual, Odontologia e Desenvolvimento de Sensor. O primeiro agrupa as publicações relacionadas à utilização da goma do cajueiro a fim de potencializar a recuperação dos tecidos corporais com ou sem associação com outras substâncias; o segundo avalia a atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* de algumas gomas utilizadas popularmente em aplicações odontológicas e, finalmente, o terceiro discorre sobre o desenvolvimento de um sensor para peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Moreira, et al. 2015; Schirato, et al. 2006; Vieira, et al. 2014; Nunes Pauli, et al. 2015).

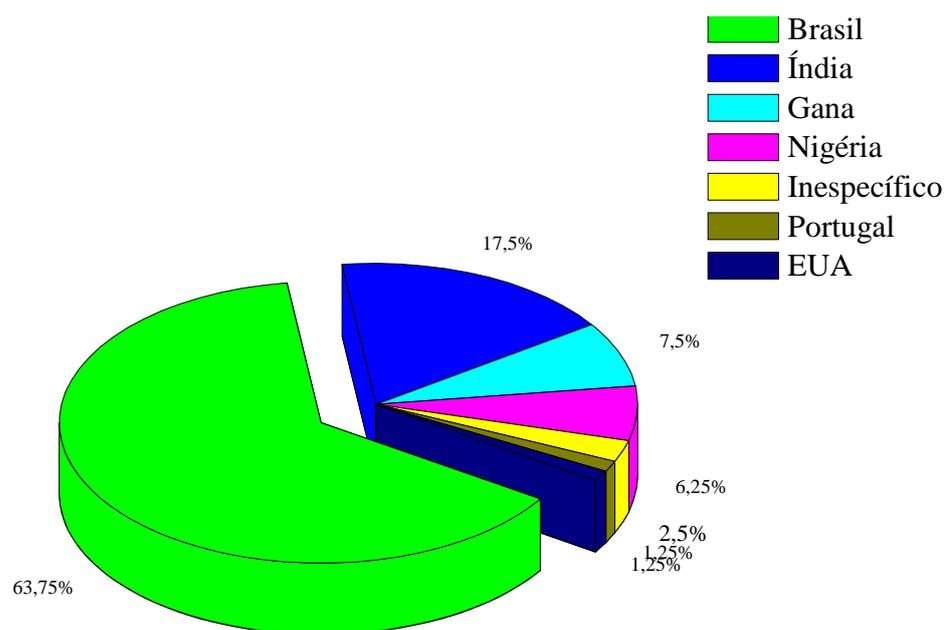
Muitos artigos que envolvem aplicações biomédicas da goma de cajueiro foram encontrados na plataforma de busca Scopus. As publicações que foram classificadas em Distribuição Controlada de Fármacos apresentam uma ampla gama de abrangência de sistemas desenvolvidos para essa finalidade e de drogas testadas. O primeiro artigo publicado nesse sentido foi no ano de 2006 e se intitula “Reacetylated chitosan/cashew gum gel: preliminary study for potential utilization as drug release matrix” e discorre sobre a caracterização de uma matriz para liberação controlada de fármacos, construída com quitosana e goma do cajueiro (Maciel et al, 2005). O trabalho avalia a cinética de liberação do cloridrato de pilocarpina a partir desse sistema. Após essa publicação, apenas no ano de 2009, outro artigo nessa linha de pesquisa voltou a ser publicado. Na oportunidade, o autor comparou características dos perfis de liberação do Paracetamol, a partir de comprimidos formulados com substratos diferentes, incluindo a goma do cajueiro. No total, são 16 publicações que utilizam a goma do cajueiro em pesquisas

para distribuição controlada de fármacos. Apesar de o Brasil ter assinado o primeiro artigo tendo como base essa linha de pesquisa, a Índia apresenta o maior volume de publicações nesse sentido (62,5%). O Brasil contribui apenas com 18,7 % seguido por Gana, Nigéria e EUA com 6,2%, cada. Além do artigo de Maciel et al (2006), outros dois foram desenvolvidos por grupos brasileiros nos anos de 2013 e 2015. Um dos artigos avaliou a incorporação da vitamina B12 nos seguintes materiais: goma arábica, goma de cajueiro, alginato de sódio, carboximetil celulose e Eudragit® RS100. Além disso, foi avaliado o perfil de liberação do fármaco em diferentes condições de pH. Outro discute sobre o potencial de nanopartículas formadas por goma do cajueiro modificada através de uma reação de acetilação (apresentando grau de substituição de 2,8), a fim de aumentar o seu caráter hidrofóbico, para incorporar indometacina (Maciel, et al. 2006; Okoye, et al. 2009; Oliveira, et al. 2013; Pitombeira, et al. 2015).

Em relação às publicações indianas, pode-se afirmar que elas apresentam semelhanças entre si, no que diz respeito às hipóteses dos estudos. No ano de 2010, pesquisadores indianos publicaram um artigo na revista *Journal of Pharmaceutical Science and Research* semelhante ao de Okoye et al. (2009) descrito anteriormente, no entanto, utilizaram diclofenaco de sódio para a liberação. O artigo seguinte avaliou o perfil de distribuição do fármaco a partir de um sistema multiparticulado composto por goma do cajueiro, em várias proporções, e outros polímeros. Uma pesquisa interessante realizada por pesquisadores provenientes desse mesmo país, sugere a administração por via tópica de lidocaína, utilizando a goma de cajueiro como veículo. A publicação mais recente segue o mesmo padrão das anteriores: foram desenvolvidos comprimidos com diferentes concentrações de goma do cajueiro, alguns contendo a goma modificada onde comparou-se a cinética de liberação do fármaco a partir dessas estruturas (Ganesh, et al.

2010; Gandhi, Badgujar, & Kasiwal, 2011; Das, Nayak, & Nanda, 2013; Bhosale, et al. 2015).

Figura 5. País de origem dos artigos publicados no Scopus utilizando como termo de busca “cashew gum”.



Fonte: Autoria própria (2015).

Como é possível observar na Figura 5, o Brasil apresenta a grande maioria do volume de publicações em relação ao termo de busca “cashew gum”. Isso acontece por esse país ser um grande produtor dessa espécie de planta e por apresentar grupos de pesquisa especializados nesse tema. Dessa forma, há representantes brasileiros em todos os temas de investigação sobre goma de cajueiro. No entanto, o maior volume desse

material se concentra nas áreas de caracterização de materiais e desenvolvimento de formulação farmacêutica.

O perfil dos temas de publicação dos artigos também varia de acordo com os países. Metade das pesquisas relacionadas à agricultura foi desenvolvida na África. Oriundo dessa nação, também há publicações relacionadas com a indústria alimentícia, distribuição de fármacos e caracterização de materiais.

A partir da observação dos dados da Tabela 1, pode-se afirmar que apenas a plataforma de patentes nacional: Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) possui documentos nesse formato e que estes são referentes ao termo de busca “cashew gum”.

A classificação das patentes se apresenta descrita na Tabela 2, onde se observa a presença de uma patente catalogada na grande área A que corresponde às necessidades humanas, outra na grande área B relacionada com operações de processamento e transporte e duas na C onde se enquadram as patentes na área de química e metalurgia. A patente intitulada Produção de Goma de Cajueiro se enquadra na classificação de duas grandes áreas: A e C. Esse documento descreve um processo de obtenção da goma de cajueiro, obtida a partir do exsudato do tronco da árvore, purificada, bem como a patente: Método de Isolamento da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), que também descreve um processo de depuração e otimização no tratamento de pureza da goma.

Tabela 2. Agrupamento quanto à classificação internacional de patentes.

TÍTULO	REFERÊNCIA	CLASSIFICAÇÃO
Produção de goma de cajueiro	Mothé, C. R., 2000	A23C: Alimentos ou produtos alimentícios; seu beneficiamento, não abrangido por outras classes
Processo para a utilização da goma de cajueiro como depressor na flotação de minerais calcários	Correia, J. C. G., Ribeiro, S. C. C., Monte, M. B. M., & Seidl, P. R., 2005	B03D: Separação de materiais sólidos utilizando líquidos ou mesas ou peneiras pneumáticas; separação magnética ou eletrostática de materiais dos materiais sólidos ou fluidos; separação por meio de campos elétricos de alta tensão
Hidrogéis superabsorventes constituídos da goma do cajueiro modificada e acrilamida	Rubira, A. F., Muniz, E. C., & Feitosa, J. P. A., 2006	C08C e C08B: Compostos macromoleculares orgânicos; sua preparação ou seu processamento químico; composições baseadas nos mesmos
Produção de goma de cajueiro	Mothé, C. R., 2000	
Método de isolamento da goma do cajueiro ( <i>Anacardium occidentale</i> L.)	de Paula, R. C. M., & Rodrigues, J. F., 1990	

Um sistema absorvente apropriado para armazenamento e condicionamento de líquidos e para a liberação controlada dos mesmos foi o objeto de estudo da patente “Hidrogéis superabsorventes constituídos da goma do cajueiro modificada e acrilamida”. Por outro lado, o documento: Processo para a utilização da goma de cajueiro como depressor na flotação de minerais calcários, propõe a utilização dessa goma em um sistema capaz de realizar uma filtração por depressão do material

carbonato a partir desse polissacarídeo. Não foram encontradas patentes que relacionassem a goma de cajueiro com propriedades biomédicas.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Apesar de haver publicações relevantes no que se refere à caracterização da goma de cajueiro, ainda são reduzidas as publicações que tratam das suas aplicações. A análise desses artigos permite afirmar que esse polímero pode ser empregado em diversas áreas: biomédica, alimentícia, eletrônica e agrícola. Apesar de o Brasil ser o país que apresenta o maior volume de publicações em relação a artigos que abordam a goma do cajueiro como temática central, e o único que apresenta depósito de patentes em relação a esse material, no que diz respeito às publicações específicas para distribuição controladas de fármacos, a Índia detém 62,5% da autoria. O Brasil apresenta apenas 3 artigos publicados nessa categoria. Não foram encontradas patentes que relacionassem a goma de cajueiro com propriedades biomédicas, o que demonstra a necessidade de estudos científicos nacionais nesse sentido.

## 5. REFERÊNCIAS

Abreu, F. O. M. S., Oliveira, E. F., Paula, H. C. B., & de Paula, R. C. M. (2012). Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 89, 1277-1282.

Andrade, K. C. S., de Carvalho, C. W. P., Takeiti, C. Y., de Azeredo, H. M. C., Corrêa, J. S., & Caldas, C. M. (2013). Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*): avaliação das modificações químicas e físicas por extrusão termoplástica. *Polímeros*, 23, 667-671.

Araújo, I. M. S., Zampa, M. F., Moura, J. B., Dos Santos Jr., J. R., Eaton, P., Zucolotto, V., Veras, L. M. C., De Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., Leite, J. R. S. A., Eiras, C. (2012). Contribution of cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of Layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. *Materials Science and Engineering C*, 32, 1588-1593.

Barkalina, N., Charalambous, C., Jones, C., & Coward, K. (2014). Nanotechnology in reproductive medicine: Emerging applications of nanomaterial. *Nanomedicine*, 10, 921-938.

Bhosale, R. R., Osmani, R. A. M., Padmaja, C., & Moin, A. (2015). Formulation and evaluation of sustained release dosage form using modified cashew gum. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 7, 141-150.

Correia, J. C. G., Ribeiro, S. C. C., Monte, M. B. M., & Seidl, P. R. (2005). Processo para a utilização da goma de cajueiro como depressor na flotação de minerais calcários. PI0304986-8.

Cunha, P. L. R., de Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2009). Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova*, 3, 649-660.

Das, B., Nayak, A. K., & Nanda, U. (2013). Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: preparation and in vitro skin permeation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 514-517.

Gandhi, B. R., Badgajar, B. P., & Kasiwal, A. V. (2011). Development and in vitro evaluation of multiparticulate system using novel coating material for controlled drug delivery system. *Internacional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 3, 96-99.

Ganesh, G. N. K., Sureshkumar, R., Jawahar, N., Senthil, V., Venkatesh, D. N., & Srinivas, M. S. (2010). Preparation and evaluation of sustained release matrix tablet of diclofenac sodium using natural polymer. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 2, 360-368.

Gurman, P., Miranda, O. R., Clayton, K., Rosen, Y., & Elman, N. M. (2015). Clinical Applications of biomedical microdevices for controlled drug delivery. *Mayo Clinic Proceedings*, 90, 93-108.

Lima, A. C., dos Santos, R. A., Almeida, F. A. G., & Bandeira, C. T. (2011). Estimulantes químicos na extração da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Ciência Rural*, 31, 409-415.

Lopes, M. A., Abraham, B. A., Cabral, L. M., Rodrigues, C. R., Seça, R. M. F., Veiga, F. J. B., & Ribeiro, A. J. (2014). Intestinal absorption of insulin nanoparticles: contribution of M cells. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 10, 1139-1151.

Maciel, J. S., Paula, H. C. B., Miranda, M. A. R., Sasaki, J. C., & de Paula, R. C. M. (2006). Reacetylated chitosan/cashew gum gel: preliminary study for potential utilization as drug release matrix. *Journal of Applied Polymer Science*, 99, 326-334.

Moreira, B. R., Batista, K. A., Castro, E. G., Lima, E. M., & Fernandes, K. F. (2015). A bioactive film based on cashew gum polysaccharide for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 122, 69-76.

Mothé, C. R. (2000). Produção de goma de cajueiro. PI0004114-9.

Nunes Pauli, G. E., Araruna, F. B., Eiras, C., Leite, J. R. S. A., Chaves, O. S., Filho, S. G. B., de Sousa, M. D. F. V., Chavero, L. N., Sartonelli, M. L., & Bechtold, I. H. (2015). Nanostructured layer-by-layer films containing phaeophytin-b: eletrochemical characterization for sensing purposes. *Materials Sciences and Engineering C*, 47, 339-344.

Okoye, E. I., Onyekweli, A. O., Ohwoavworhua, F. O., & Kunle, O., O. (2009). Comparative study of some mechanical and release properties of paracetamol tablets formulated with cashew tree gum, povidone and gelatin as binders. *African Journal of Biothecology*, 8, 3970-3973.

Oliveira, A. M., Guimarães, K. L., Cerize, N. N. P., Tunussi, S. S., & Poço, J. G. R. (2013). Nano spray drying as an innovate technology for encapsulating hydrophilic active pharmaceutical ingredients (API). *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 4, 1-6.

Oliveira, E. F., Paula, H. C. B., & de Paula, R. C. M (2014). Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 146-151.

Owusu, J., Oldhan, J. H., Oduto, I., Elis, W. O., & Barimah, J. (2005). Viscosity studies of cashew gum. *Tropical Science*, 45, 86-89.

Paiva, J. R., Barros, L. M., & Cavalcanti, J. J. V. (2009). *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, Springer, (Chapter 9).

Paula, H. C. B., Sombra, F. M., Cavalcante, R. F., Abreu, F. O. M. S., & de Paula, R. C. M. (2011). Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with Lippiasidoides essential oil. *Materials Science and Engineering C*, 31, 173-178.

de Paula, R. C. M., & Rodrigues, J. F. (1990). Método de isolamento da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). PI9005645-0.

de Paula, H. C. B., de Oliveira, E. F., Abreu, F. O. M. S., de Paula, R. C. M., de Morais, S. M., & Forte, M. M. C. (2010). Esferas (beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri Pax et Hoffm. *Polímeros*, 20, 112-120.

Pitombeira, N. A. O., Veras Neto, J. G., Silva, D. A., Feitosa, J. P. A., Paula, H. C. B., & de Paula, R. C. M. (2015). Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: characterization and evaluation as potential drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, 117, 610-615.

Puiso, J., Jonkuvienė, D., Macionierė, I., Salomskienė, J., Jasutienė, I., & Kondrotas, R. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles using lingonberry and cranberry juices and their antimicrobial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 214-221.

Rodrigues, J. F., de Paula, R. C. M., & Costa, S. M. O. (1993). Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, Jan/Mar, 31-36.

Rubira, A. F., Muniz, E. C., & Feitosa, J. P. A. (2006). Hidrogéis superabsorventes constituídos da goma do cajueiro modificada e acrilamida. PI0404265-4.

Schirato, G. V., Monteiro, F. M. F., Silva, F. O., Lima Filho, J. L., Leão, A. M. A. C., & Porto, A. L. F. (2006). O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. *Ciência Rural*, 36, 149-154.

Silva, D. A., Feitosa, J. P. A., Maciel, J. S., Paula, H. C. B., & de Paula, R. C. M. (2006). Characterization of crosslinked cashew gum derivative. *Carbohydrate Polymers*, 66, 16-26.

Vieira, D. R. P., Amaral, F. M. M., Maciel, M. C. G., Nascimento, F. R. F., Libério, S. A., & Rodrigues, V. P. (2014). Plant species used in dental diseases:

ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 1441-1449.

Zhao, L., Wang, Y., Zhai, Y., Wang, Z., Liu, J., & Zhai, G. (2014). Ropivacaine loaded microemulsion and microemulsion-based gel for transdermal delivery: Preparation, optimization, and evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 477, 47-56.

**CAPÍTULO 2: OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO  
CAJUEIRO ACETILADA COM INCORPORAÇÃO DE TAMOXIFENO PARA  
O TRATAMENTO DE QUELOIDE**

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA  
COM INCORPORAÇÃO DE TAMOXIFENO PARA O TRATAMENTO DE  
QUELOIDE**

*Karolina Carneiro Morais de Macedo<sup>1</sup>, Durcilene Alves da Silva<sup>1</sup>, Edson Cavalcanti da  
Silva Filho<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos  
Materiais, Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados - LIMAV*

## RESUMO

Polímeros naturais vem sendo empregados em aplicações biomédicas por apresentar vantagens como biocompatibilidade, toxicidade reduzida e baixo custo. Nesse sentido, a goma do cajueiro e seus derivados são promissores, pois além de apresentarem essas características, são provenientes de fontes renováveis. Assim, foram preparadas nanopartículas de goma do cajueiro acetilada, pela técnica de diálise com o propósito de incorporar tamoxifeno. Através da técnica de espalhamento de luz dinâmico verificou-se que o tamanho médio de partículas variou entre  $202,2 \pm 0,7$  nm e  $104,0 \pm 2,8$  nm. O potencial zeta mostrou-se negativo para todos os sistemas e se manteve estável após cinco meses. O índice de polidispersão manteve-se inferior a 0,2 para todas as amostras. A eficiência de incorporação, que apresentou valores de 34,7% no sistema com acetona e de 37,7% quando o dimetilsulfóxido foi utilizado como solvente inicial. A análise morfológica foi realizada através da técnica de microscopia de força atômica, onde foi possível observar o formato esférico das nanopartículas e a presença de tamoxifeno na sua matriz, quando a acetona foi utilizada para a síntese. Por fim, a concentração de partículas nas amostras, evidenciada através da análise de rastreamento de partículas, apresentou valores entre  $1,19 \pm 0,09 \times 10^9$  e  $0,81 \pm 0,01 \times 10^9$  partículas/mL nos sistemas com o fármaco em dimetilsulfóxido e acetona, respectivamente. Testes microbiológicos realizados com os microorganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* mostraram eficácia do tamoxifeno contra o fungo e a bactéria Gram-positiva, reduzindo o crescimento de colônias em até 66,9% para o sistema em acetona.

Palavras-Chave: nanopartículas, goma do cajueiro acetilada, diálise, tamoxifeno.

## ABSTRACT

Natural polymers are being used in biomedical applications to present advantages such as biocompatibility, low toxicity and low cost. In this sense, the cashew gum and its derivatives are promising, because in addition to having these characteristics come from renewable sources. Hence, the acetylated cashew gum nanoparticles were prepared by dialysis technique for the purpose of incorporating tamoxifen. By the dynamic light scattering technique it was found that the average particle size ranged between  $202,2 \pm 0,7$  nm and  $104,0 \pm 2.8$  nm. The zeta potential was negative for all systems and is stable after five months. The polydispersity index remained below 0,2 for all samples. The incorporation efficiency, which showed values of 34,7% for the system with acetone and 37,7% when the initial dimethylsulfoxide was used as solvent. Morphological analysis was performed using the technique of atomic force microscopy, where we observed the spherical shape of the nanoparticles and the presence of tamoxifen in the matrix, when acetone was used for the synthesis. Finally, the concentration of particles in the sample, as evidenced by particle tracking analysis showed values between  $1.19 \pm 0.09 \times 10^9$  and  $0.81 \pm 0.01 \times 10^9$  particles / mL in the systems with the drug in dimethyl sulfoxide and acetone, respectively. Microbiological tests conducted with the microorganism *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* showed efficacy against fungi and Gram-positive bacteria, reducing the growth of colonies by up to 66,9% for the system acetone.

Key-Words: nanoparticle, acetylated cashew gum, dialysis, tamoxifen.

## 1. INTRODUÇÃO

Nanotecnologia é uma área integrativa que representa uma combinação única entre a química, matemática, física, computação e ciência dos materiais, capaz de investigar e manipular matéria física em escala nanométrica. Por definição, nanopartículas representam matéria com até  $10^{-9}$ nm. No entanto, seu conceito é mais abrangente englobando a ideia de tudo que pode ser desenvolvido a partir do domínio da técnica de miniaturização. Em escala nanométrica as propriedades químicas, físicas e biológicas dos materiais diferem da sua conformação macromolecular, constituída por átomos (Barkalina, et al. 2014).

A vantagem do desenvolvimento de tecnologia envolvendo nanopartículas consiste na possibilidade de associação entre características físicas e funcionais de cada material em um novo, com propriedades únicas (Peixoto. 2013).

Vários fatores interferem nas propriedades expressas pelas nanopartículas influenciadas pelo seu tamanho, forma e composição. No entanto, todas possuem como característica comum o tamanho reduzido e, conseqüentemente, aumento da área e energia superficial, o que permite novos níveis de performances em vários campos de atuação como medicina, produção de alimentos, indústria farmacêutica, ciência dos materiais, setor elétrico, de transporte e óptico (Barkalina, et al. 2014; Avnesh, Yadav, &Yadav, 2010; Kim, et al. 2006).

As aplicações dessa classe de materiais na área médica envolve, frequentemente, a utilização de nanopartículas biodegradáveis, ou seja, capazes de se decompor dentro do organismo. Nesse sentido, a nanoencapsulação de fármacos é uma vertente promissora no tratamento de doenças, pois drogas nanoencapsuladas podem ser mais específicas aos sítios-alvo, o que reduz o impacto do fármaco sob outros sistemas do corpo, interferindo no risco de intoxicação e possíveis efeitos colaterais. Além disso, a

nanoencapsulação apresenta outras vantagens como o aumento da biodisponibilidade do fármaco, solubilidade e tempo de retenção pelos tecidos, independente da sua solubilidade em água. Nanofármacos apresentam ainda benefícios relacionados com proteção contra degradação prematura e aumento da penetração intracelular do medicamento (Avnesh, Yadav, & Yadav, 2010; Errico, et al. 2009; Coimbra. 2010).

A escolha da técnica de síntese de nanopartículas depende da sua natureza e do propósito a ser executado por esse material. Em aplicações biomédicas, nanopartículas poliméricas se destacam devido à versatilidade de aplicações e facilidade de obtenção. Em materiais poliméricos nanoestruturados, é possível alterar grupamentos químicos presentes na arquitetura macromolecular das cadeias e modificar a superfície das partículas para facilitar a sua interação com o tecido biológico ou com moléculas bioativas, por exemplo (Peixoto. 2013).

A utilização de nanopartículas poliméricas para distribuição controlada de fármacos vem sendo empregada para o tratamento de doenças como diabetes e câncer. A principal característica desse sistema consiste na possibilidade de poder ser produzido com o uso de estratégias de direcionamento a um alvo, conhecidas como vetorização. Isso ocorre quando partículas poliméricas carregadoras do fármaco são bioconjugadas com sinalizadores que podem ser reconhecidos por receptores nas células ou tecidos-alvo (Peixoto. 2013; Mora-Huertas, Fessi, & Elaissari, 2010; Oliveira, de Paula, & de Paula, 2014; de Paula, et al. 2011).

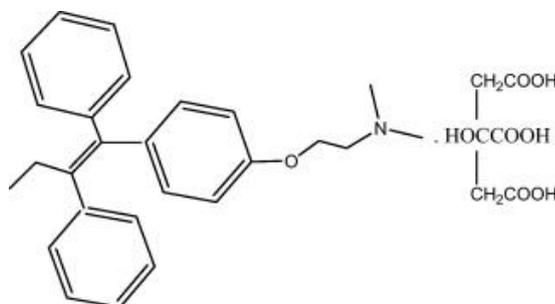
Nesse sentido polissacarídeos biodegradáveis provenientes de fontes renováveis são preferíveis para essa finalidade, pois apresentam menor potencial alérgico. O polissacarídeo presente na goma do cajueiro representa uma excelente alternativa para aplicações biomédicas por ser bactericida, biocompatível e biodegradável. Essa goma é extraída do vegetal *Anacardium occidentale* L., vastamente encontrado nas regiões

Norte e Nordeste do Brasil (Vitorino. 2011; Pitombeira, et al. 2015; e Silva, et al. 2013; Florencio, et al. 2007).

Apesar de apresentar características favoráveis à sua utilização como biomaterial, a goma do cajueiro é solúvel em água, o que dificulta a sua manipulação quando se trata da síntese de nanopartículas. Felizmente esse polissacarídeo pode ser modificado, com tratamento químico, a fim de alterar a sua polaridade. Assim, grupos hidrofóbicos podem ser covalentemente ligados ao polissacarídeo como, por exemplo, no processo de acetilação. Nanopartículas de goma do cajueiro acetilada (GCA) são eficazes para a liberação controlada de fármacos, como por exemplo, a indometacina (Pitombeira, et al. 2015).

Nesse sentido, pode ser testada a viabilidade de distribuição de outros fármacos utilizando nanopartículas de goma do cajueiro, como o tamoxifeno (TMX) (Figura 1). Esse medicamento representa um hormônio sintético originalmente utilizado no tratamento do câncer de mama. Durante muito tempo ele apresentou pouca expressividade em pesquisas científicas. No entanto, na década de 1970, um projeto americano desenvolvido para resgatar e buscar funcionalidade para medicamentos esquecidos pela indústria farmacêutica direcionou a atenção da comunidade científica para o tamoxifeno, pois alguns trabalhos mostravam resultados clínicos superiores quando comparado com os medicamentos disponíveis para o tratamento do câncer de mama na época. Até então, esse fármaco não era visto como promissor, pois a quimioterapia citotóxica para o tratamento do câncer de mama era considerada mais eficiente. Ainda nesse período, foi proposta a sua utilização nos estágios finais do tratamento do câncer de mama e como paliativo adjuvante em longo prazo, com a intenção de evitar o retorno da doença (Jordan. 2014).

Figura 1. Estrutura química do tamoxifeno.



Fonte: Samah et al (2011).

Grande parte dos cânceres de mama apresentam receptores específicos de estrógeno e o crescimento desse tumor está diretamente relacionado com a manutenção da integridade desses receptores. O tratamento do câncer de mama geralmente inclui uma terapia que bloqueia a sinalização do estrógeno. O TMX apresenta atividade agonista seletivo dos receptores de estrógeno com ação antagonista na mama e agonista no endométrio (Barra, et al. 2013).

Apesar desse agente quimioterápico ser amplamente utilizado principalmente durante o tratamento do câncer de mama, o TMX apresenta potencial terapêutico para outras patologias por possuir propriedade antifúngica, atividade contra Leishmania além de se mostrar eficaz no tratamento de fibrose, cicatrizes hipertróficas e quelóide. O mecanismo de ação do tamoxifeno nessas condições ainda não foi completamente elucidado, no entanto, as pesquisas sugerem que essa droga atue sobre o fator de transformação do crescimento presente nas células, responsável por promover a proliferação e diferenciação celular (Karaca, et al. 2013; Dolan, et al. 2009; Gragnani, et al. 2010; Mikulec, et al. 2001; Miguel, et al. 2007).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho é o desenvolvimento e caracterização de um sistema nanoparticulado de liberação controlada de fármacos, a partir de goma do

cajueiro acetilada, eficaz para administração transdérmica e verificação da atividade antimicrobiana desse sistema. Para esse propósito, foi utilizado o tamoxifeno, fármaco que apresenta potencial terapêutico para o tratamento de quelóide.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1. MATERIAIS E REAGENTES**

A goma do cajueiro utilizada na síntese das nanopartículas foi extraída da árvore *Anacardium occidentale* L., isolada e purificada segundo o método descrito por de Paula et al. (1998) e modificada através de uma reação de acetilação pelo método Motozato et al. (1996) Esse material foi gentilmente cedido pelo Laboratório de Polímeros da Universidade Federal do Ceará, bem como o tamoxifeno que foi cedido pelo Grupo de Pesquisa em Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal do Piauí. As membranas de diálise foram obtidas da Sigma-Aldrich. Todos os solventes orgânicos e reagentes utilizados durante a realização da pesquisa, incluindo a acetona e o DMSO apresentam grau analítico.

### **2.2 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA (GCA)**

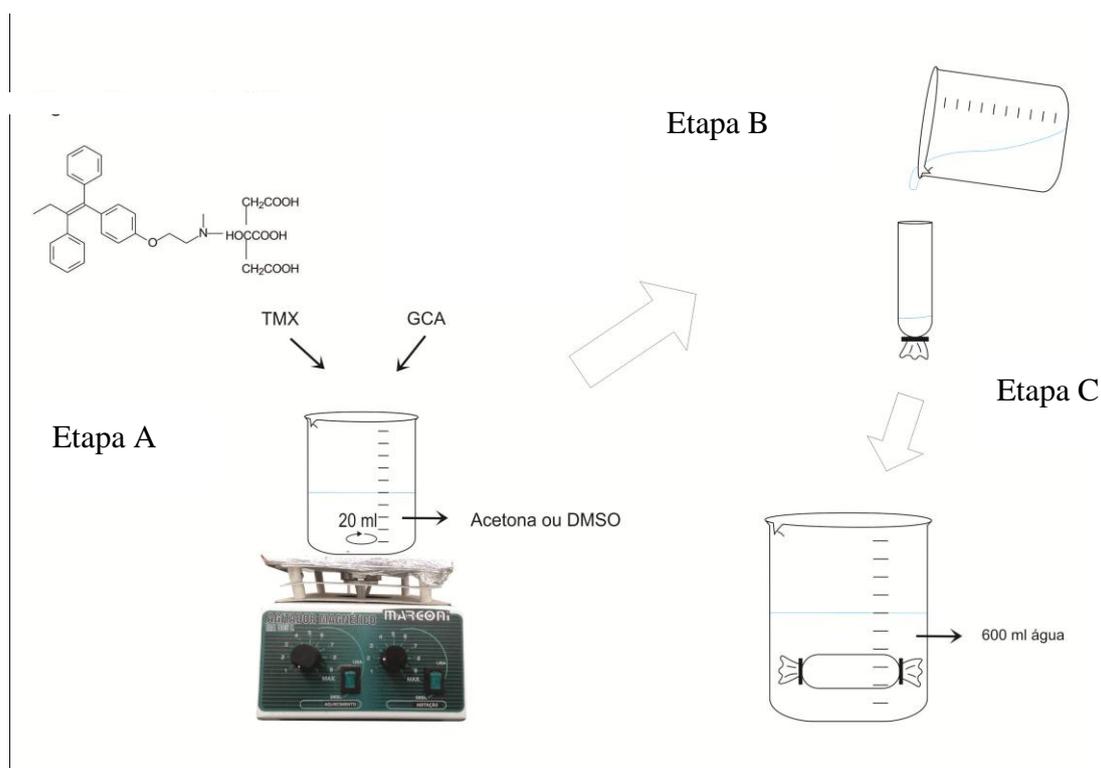
As nanopartículas de GCA com TMX foram preparadas pelo método de diafiltração. Inicialmente 10,0 mg de GCA e 1,0 mg de TMX foram diluídos em 20,0 ml de acetona ou DMSO e submetidos à agitação por 30 min, para proporcionar a homogeneização do sistema (Etapa A da Figura 2). Em seguida, a solução foi inserida em uma membrana de diálise com 76 mm de espessura e 12 kDa de limite de exclusão (Etapa B da Figura 2). Essa membrana foi depositada em um recipiente com 600 mL de água destilada, por um período de aproximadamente 24 h (Etapa C da Figura 2). A condutividade (Condutivímetro Ávila Científica, AC 200) da água foi utilizada para monitorar as trocas de água que ocorriam em intervalos regulares. Assim, ao final da

diálise, a condutividade da água deveria ser semelhante á aferida antes do início do processo.

Após 24 h as partículas se encontravam armazenadas no interior da membrana de diálise e suspensas em água. O volume final dessa solução era aferido e, em seguida, encaminhado para a liofilização, quando necessário (Liofilizador Enterprise I).

Para as amostras do grupo controle o mesmo procedimento descrito anteriormente foi utilizado, no entanto, o fármaco não foi adicionado ao sistema.

Figura 2. Processo de diálise.



Fonte: Autoria própria.

## 2.3. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

### 2.3.1 Espalhamento de Luz Dinâmico (ELD)

Para determinação do tamanho das partículas foi utilizada a técnica de espalhamento de luz dinâmico, através do equipamento Malvern Zetasizer Nano, Modelo ZS 3600. Esse equipamento apresenta um laser de He-Ne com comprimento de onda de 633 nm e opera com um ângulo de dispersão fixo em 173°. Cada amostra antes de ser inserida no equipamento foi homogeneizada com o auxílio de um vórtex e as medidas foram feitas em triplicata e sob temperatura ambiente (25°C), sendo os resultados analisados através do Software Zetasizer 7.11 e descritos como média  $\pm$  desvio padrão.

### 2.3.2 Índice de Polidispersão (IPD)

O índice de polidispersão foi obtido simultaneamente ao tamanho da partícula também através do equipamento Malvern Zetasizer Nano, Modelo ZS 3600.

### 2.3.3 Potencial Zeta

A medição da carga superficial da partícula foi observada a partir do mesmo equipamento utilizado para identificar o seu tamanho, Malvern Zetasizer Nano, Modelo ZS3600.

## 2.3.4 Quantidade de Fármaco Incorporado e Eficiência de Incorporação

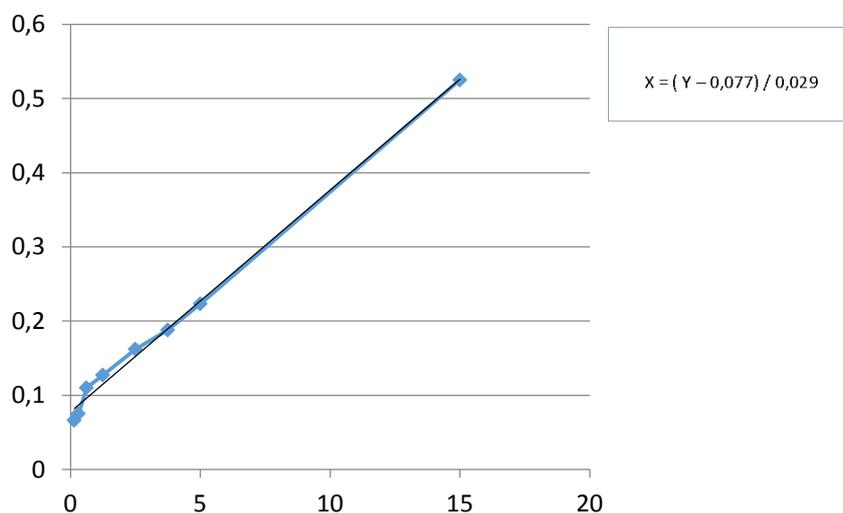
### 2.3.4.1 Curva de Calibração

Para determinação da quantidade de fármaco incorporado e da eficiência de incorporação foi construída uma curva de calibração do TMX em metanol, solvente escolhido para realizar a extração do fármaco a partir das nanopartículas. A curva foi determinada por oito concentrações diferentes que variaram entre 0,15 e 15µg/mL. A absorvância associada à presença do fármaco, foi observada no comprimento de onda de 278,21 nm. A partir da curva de calibração foi determinada a equação da reta e o valor do  $R^2$ , que para o sistema testado correspondeu a 0,994 (Figura 3).

Tabela 1. Concentração e referente absorvância no comprimento de onda 278,21 utilizados para a construção da curva de calibração.

Concentração (µg / mL)	Absorvância (278,21nm)
15	0,525
5	0,223
3,75	0,188
2,5	0,162
1,25	0,127
0,62	0,11
0,31	0,075
0,15	0,066

Figura 3. Curva de calibração do tamoxifeno em metanol.



A quantidade de TMX nas nanopartículas foi determinada por Espectroscopia UV-vis (UV-1800, Spectrophotometer Shimadzu) em 278,21 nm e calculada utilizando uma curva de calibração relacionando concentração (20 µg/mL a 0,15 µg/mL) e absorbância. A eficiência de incorporação (EI%) do TMX é dada pela relação entre as equações 1, 2 e 3 (Jeon, et al. 2000):

**Quantidade Experimental de Fármaco Incorporado (%)**

$$\frac{\text{Massa.de.TMX.na.nanopartícula}}{\text{Massa.(NP.GCA-TMX)}} \times 100 \quad (1)$$

**Quantidade Teórica de Fármaco Incorporado (%)**

$$\frac{\text{Massa.de.TMX.adicionada}}{\text{Massa.de.TMX.adicionada} + \text{Massa.de.GCA.adicionada}} \times 100 \quad (2)$$

**Eficiência de Incorporação (%)**

$$\frac{\text{Quantidade.Experimental}}{\text{Quantidade.Teórica}} \times 100 \quad (3)$$

### **2.3.5 Análise Morfológica por Microscopia de Força Atômica (MFA)**

Para avaliação da morfologia das nanopartículas poliméricas de goma do cajueiro foram utilizadas uma amostra de nanopartículas sem tamoxifeno e outra com tamoxifeno incorporado. Para tanto, 20  $\mu\text{L}$  da solução de nanopartículas foram depositadas sobre a mica, com posterior secagem a 35°C por 10 min. As amostras foram lavadas delicadamente com água destilada e secas conforme descrito acima, seguindo-se, então, para a análise no MFA.

O equipamento utilizado trata-se de um microscópio TT-AFM da AFM Workshop (USA). As observações foram feitas no modo vibração (vibrating mode) ou contato intermitente, usando cantilevers (NSG10/NT-MDT) com frequência de ressonância de, aproximadamente, 240 kHz. Para o tratamento das imagens foi usado o programa Gwiddion software 2.33.

### **2.3.6 Determinação da Concentração por Análise de Rastreamento de Partícula**

A técnica de rastreamento de partículas para determinação da sua concentração é realizada a partir das imagens capturadas através de um microscópio digital. Um feixe de luz proveniente de um laser é emitido sobre o porta amostra e a luz dispersa por cada partícula é capturada por uma câmera digital de alta resolução acoplada ao microscópio. Uma série de imagens é capturada em intervalos de tempo específicos. A partir da localização das partículas em cada imagem, o software reconstrói a trajetória do seu movimento Browniano. Essa é uma técnica de contagem direta onde o software reconhece e numera as partículas, de acordo com o espalhamento de luz de cada uma delas, determinando assim a sua concentração no meio. Para que isso seja possível é

necessário que o índice de refração da partícula seja maior que o do solvente. Além disso, o software apresenta um nível de contagem ideal que corresponde a aproximadamente 100 partículas por imagem de vídeo. Dessa forma, para que esse número seja obtido, em algumas situações é necessário que as amostras sejam diluídas, o que limita a aplicação dessa técnica para estruturas que são sensíveis a diluição (Hassan, Rana, & Verma, 2015).

A concentração das nanopartículas foi investigada pela técnica de análise de rastreamento de partículas. O equipamento utilizado foi o NanoSight LM 10 com célula (laser verde, 532 nm) e uma câmera sCMOS controlado via software Nanosight versão 3.0. Foram realizadas diluições nas amostras que variaram de acordo com as suas concentrações iniciais. Assim, as amostras dos controles em acetona e em DMSO foram diluídas 15 e 60 vezes, respectivamente. No que se refere às amostras carregadas com fármaco, não foi necessário realizar qualquer diluição. Todas as amostras foram filtradas em uma membrana com poros de 0,45 µm antes de serem injetadas no equipamento. As medidas foram feitas em quintuplicata e após cada replicata reinjetava-se 1 ml de amostra na célula volumétrica. Todas as medidas foram realizadas sob a temperatura de 25° C. O resultado final consiste na concentração de partículas por mL na amostra.

### **2.3.7 Estudo de Estabilidade Coloidal**

As nanopartículas contendo tamoxifeno e seus respectivos controles foram armazenadas por cinco meses sob adequadas condições de temperatura e umidade. Após esse período o potencial zeta das partículas foi novamente aferido e comparado com o resultado obtido anteriormente.

## **2.4. Ensaios de Atividade Antimicrobiana**

### **2.4.1. Atividades antimicrobianas contra cepas padrões de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e *Candida albicans***

#### **2.4.1.1. Linhagens Bacterianas**

Os ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana foram realizados com as linhagens *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922. E para avaliação da atividade antifúngica foram realizados testes com a linhagem *C. albicans* NEWP31. Estas linhagens foram mantidas em ágar nutriente (AN, Himedia, India) inclinado, mantido sob temperatura de 4°C. Antes dos ensaios foram obtidas culturas em caldo BHI (BrainHearthInfusion, DifcoLaboratories Ltda.).

#### **2.4.1.2 Teste de Contato Direto**

Para realização destes ensaios, preparou-se uma suspensão contendo aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL em salina fisiológica, seguindo a escala de Mac Faland. Em seguida 100,0µL desta suspensão foi transferida para placas de Petri contendo o meio agar Mueller Hinton . Em cada placa também foram adicionados 100,0µL das soluções testes semeadas com o auxílio de uma alça de Drigalsky pelo método spread plate, seguido de incubação a 37° C por 24 h. Como controle positivo de crescimento bacteriano a solução teste foi substituída por 100,0µL de solução salina (SF). Todos os ensaios com a solução teste, controle positivo e controle de solvente foram realizados em triplicata. O efeito inibitório produzido por cada solução-teste foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\eta = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100\% \quad \text{Equação (04)}$$

Onde  $\eta$  é definido como o efeito inibitório,  $N_1$  é a média aritmética das unidades formadoras de colônia das placas controle e  $N_2$  é a média aritmética das unidades formadoras de colônia de cada uma das soluções testadas.

#### **2.4.1.3 Avaliação da Atividade Fotossensibilizante**

Para preparação do inóculo, uma porção do crescimento bacteriano em ágar inclinado foi semeada por estrias múltiplas em placas de petri contendo ágar nutriente (AN), seguido de incubação à 37° C por 24 horas. Após este período, uma porção do crescimento obtido nas placas de petri foi transferida para um tubo falcon contendo 3,0 mL de Brain Heart Infusion (BHI, Himedia, India), o qual foi incubado a 37° C por 24 horas. A partir desta cultura em BHI, preparou-se uma suspensão bacteriana padronizada para uma densidade equivalente a 0,5 na escala Mac Farland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Este inóculo padronizado foi semeado por distensão na superfície de um ágar infusão de cérebro e coração (ABHI) distribuído em placas de petri, com o auxílio de um swab esterilizado. As placas foram deixadas na estufa a 37° C por cerca de 20 min e após esse período, foi realizada a aplicação dos discos contendo as amostras.

Os ensaios para avaliação da atividade fotossensibilizante foram realizados em triplicata de acordo com Lopez et al. (2001). Para a realização dos ensaios, 10  $\mu$ L de cada solução foram adicionados em discos blanks (100  $\mu$ g / disco).

Para evidenciar a atividade fotossensibilizante, dois ensaios simultâneos foram realizados. Uma placa contendo os discos foi exposta à luz UVA (5 W/m<sup>2</sup>, de 320-400 nm, a partir de quatro lâmpadas Sylvania F20T12-BLB, com emissão máxima a 350 nm) durante 2 h, enquanto que a outra foi mantida no escuro. As placas foram

incubadas a 37° C por 24 h e após este período foi realizada a leitura dos diâmetros das zonas de inibição de crescimento. A leitura das zonas de inibição foi efetuada com régua utilizando os seguintes parâmetros: inativo (< 9 mm), parcialmente ativo (9 – 12 mm), ativo (12 – 18 mm) e muito ativo (> 18 mm) (Alves, et al. 2000; Rios, Recio, & Villar, 1998).

Como controles positivos de inibição de crescimento, foram utilizados discos de ciprofloxacina (5µg / disco). Discos impregnados com uma solução hidroetanólica de 8-metoxipsoraléina (8-MOP, 5 µg/disco) a 40% (v/v) foram utilizados como um controle positivo de atividade fotossensibilizante. Discos blank impregnados com DMSO (10 µL) foram utilizados como controle negativo.

## **2.5 Análise Estatística**

Todos os dados foram analisados através do teste de Tukey ANOVA com o índice de significância de  $p < 0,05$ . Os resultados foram expressos no formato de média  $\pm$  desvio padrão em tabelas e figuras.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. CARACTERIZAÇÕES**

##### **3.1.1 Espalhamento de Luz Dinâmico, Potencial Zeta e Índice de Polidispersão**

O solvente inicial utilizado durante o processo de diálise influencia o tamanho, índice de polidispersão e potencial zeta das partículas.

A amostra C1 e F1 são referentes às amostras que iniciaram a diálise com DMSO e representam nanopartículas apenas de goma do cajueiro acetilada e nanopartículas de goma acetilada com TMX incorporado, respectivamente. As amostras C2 e F2 representam os mesmos sistemas, porém nesse caso o DMSO foi utilizado como solvente inicial.

Esse método de obtenção de partículas se baseia no princípio da osmose, que permite o transporte passivo de solventes miscíveis entre si. Dessa forma, ocorre o deslocamento do solvente orgânico (solvente inicial) em direção ao exterior da membrana, o que provoca uma agregação progressiva no polímero com a droga, devido ao influxo de água no sistema. Sendo o polímero pouco solúvel em água, bem como o fármaco, há a formação das partículas através de um processo de auto formação. Esse método de síntese de nanopartículas apresenta vantagens referentes ao seu baixo custo, fácil aplicação além de evitar o uso de emulsificantes. As características das nanopartículas referentes á tamanho e morfologia dependem do solvente inicial e do limite de exclusão da membrana utilizados. (Nagavarma, et al. 2012; Zafar, Fessi, & Elaissari, 2014; Moreno-Bautista, & Tam, 2011).

A técnica escolhida para determinar o tamanho médio das nanopartículas foi o ELD. Esse sistema avalia o movimento Browniano das partículas através das flutuações na intensidade do espalhamento da luz emitido pelo laser do equipamento. Partículas

menores da amostra se difundem no meio mais rapidamente gerando um espalhamento de luz igualmente veloz, em comparação com partículas maiores. Dessa forma, o equipamento é capaz de determinar o volume hidrodinâmico das nanoestruturas. As vantagens da utilização do ELD para analisar o tamanho das partículas incluem a capacidade de fornecer informações sobre a estimativa média do conjunto de nanopartículas em suspensão, apresenta sensibilidade suficiente para detectar uma ampla gama de tamanhos de partículas na escala submícron e o procedimento para realização da técnica é realizado rapidamente (Filipe, Hawe, & Jiskoot, 2010; Hassan, Rana, & Verma, 2015).

Além disso, o valor do IPD, obtido concomitantemente com o tamanho da partícula, remete às características de dispersão da amostra e pode atingir valores entre 0 e 1. Segundo Shah et al. (2014), valores  $\leq 0,5$  são aceitáveis enquanto medidas  $\leq 0,3$  são consideradas ótimas. Índices de polidispersão  $\leq 0,1$  indicam a mais alta qualidade de dispersão de partículas.

Tabela 2. Caracterização das nanopartículas de CGA e CGA-TMX em relação á tamanho, índice de polidispersão, potencial zeta e concentração de partícula.

Solvente	Amostra	DLS				NTA	
		Tamanho (nm)	D.P (nm)	PDI	D.P.	Concentração ( $10^9/ml$ )	D.P. ( $10^9/ml$ )
DMSO	C1	81,3	$\pm 0,1$	0,219	$\pm 0,009$	92,41	$\pm 0,03$
	F1	110,0	$\pm 0,01$	0,147	$\pm 0,018$	1,19*	$\pm 0,09$
Acetona	C2	115,7	$\pm 1,3$	0,122	$\pm 0,015$	18,75	$\pm 0,07$
	F2	202,2*	$\pm 0,7$	0,098	$\pm 0,062$	0,81*	$\pm 0,01$

\* $p < 0,01$

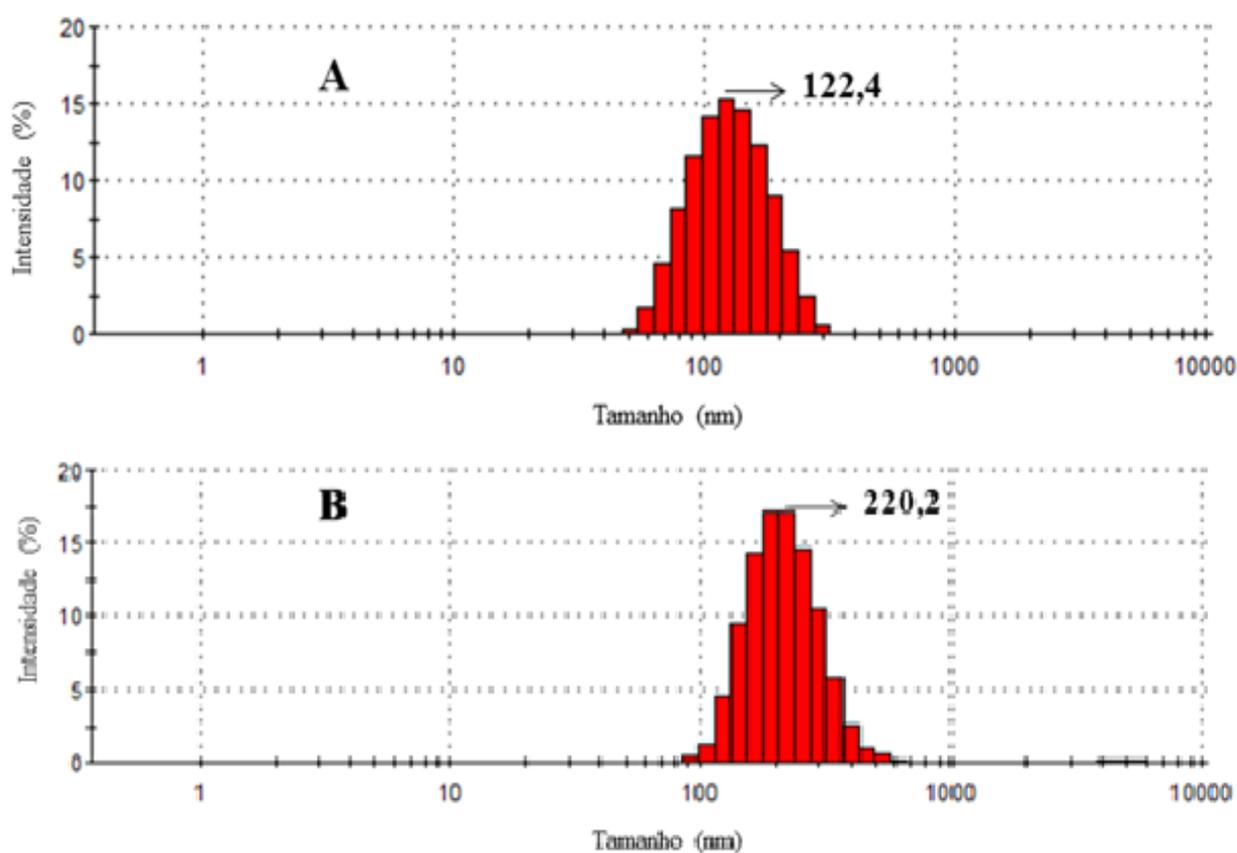
A partir das análises dos resultados gerados pelas técnicas citadas anteriormente foi observado que nanopartículas de GCA apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no tamanho médio das partículas e no índice de polidispersão, dependendo do solvente utilizado, como mostra a Tabela 2. A nanoestrutura preparada com DMSO na ausência do fármaco (amostra C1) é menor (110 nm) em relação à sintetizada com acetona (202,2 nm). Esse valor é concordante com o resultado obtido por Pitombeira et al. (2015), onde a síntese de nanopartículas de GCA foi realizada pela mesma técnica do presente trabalho e, utilizando DMSO como solvente inicial, foi encontrado tamanho médio de nanopartículas que corresponde a 179 nm. No entanto, quando se trata das nanoestruturas funcionalizadas com fármaco, as partículas sintetizadas por Pitombeira et al. (2015) apresentam 140 nm. No presente trabalho, as amostras funcionalizadas com TMX apresentaram aumento significativo ( $p < 0,01$ ) no tamanho da partícula para ambos os solventes (Tabela 2). Jeon et al. (2000) também formulou nanopartículas para encapsulação de fármacos através da técnica de diálise livre de surfactante, porém utilizou como polímero o PLGA, e quando a acetona foi escolhida para representar o solvente inicial, o tamanho médio de partículas encontrado foi 634 nm. No mesmo estudo, quando o DMSO foi o solvente selecionado, o tamanho médio das partículas foi de 236,5 nm. Por outro lado, Khuroo et al. (2014) conseguiram obter nanopartículas de tamoxifeno com 151 nm através da técnica de emulsificação-evaporação do solvente, na presença de surfactante.

Azevedo (2002) também relata um aumento no diâmetro das nanopartículas após a incorporação do fármaco e Maji et al. (2014) obtiveram nanopartículas poliméricas funcionalizadas com tamoxifeno que variaram de 242,5 nm para 382,0 nm após o acréscimo de fármaco.

Os histogramas apresentados nas figuras 4 e 5 mostram a distribuição de tamanho das nanopartículas com ressalva para os maiores valores encontrados em cada amostra.

No que diz respeito ao IPD, foi observado um que para todas as amostras esse índice manteve-se inferior a 0,3, sendo classificados como ótimos. Além disso, a amostra F2 apresentou valor correspondente a 0,098, caracterizada como padrão ouro para IPD de partículas.

Figura 4. Distribuição de tamanho das nanopartículas preparadas com acetona (A) C2 e (B) F2



Fonte: Autoria própria.

Figura 5. Distribuição de tamanho das nanopartículas preparadas com DMSO (A) C1 e (B) F1.

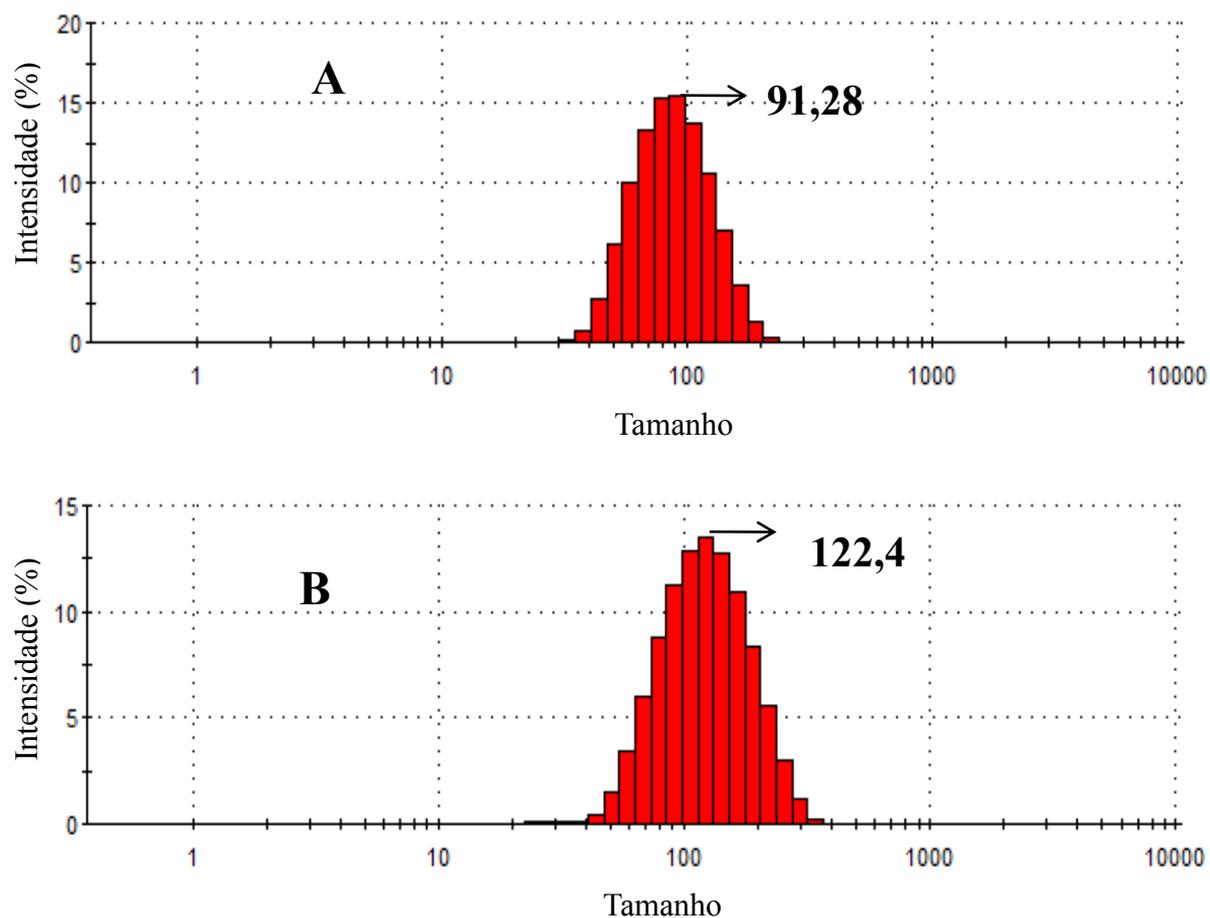


Tabela 3. Medidas de potencial zeta das amostras. (1) Janeiro/2015. (2) Junho/15.

Solvente	Amostra	Pot. Zeta 1 (mV)	Pot. Zeta 2 (mV)
DMSO	C1	-39,8	-36,6
	F1	-31,1	-35,7
Acetona	C2	-31,7	-33,4
	F2	-22,4	-26,7

Fonte: Autoria própria.

O potencial zeta corresponde ao potencial elétrico criado pela presença de cargas na superfície das partículas e pode apresentar polaridade positiva ou negativa. Esse potencial indica o grau de repulsão entre partículas com a mesma carga na amostra e essas forças de repulsão evitam que as partículas se segreguem durante o período em que ficam armazenadas (Shah, et al. 2014).

Nesse trabalho, com exceção da amostra referente às nanopartículas preparadas com DMSO na presença do fármaco, todas as outras apresentam um potencial zeta inferior a 30 mV, em módulo, o que sugere adequada estabilidade coloidal do sistema. Não houve diferença estatística entre as cargas das amostras após cinco meses de armazenamento (Tabela 3).

### **3.1.2. Análise Morfológica**

A análise das imagens obtidas por microscopia de força atômica das amostras C2 e F2 permite afirmar que as nanopartículas apresentam formato esférico e se distribuem de forma agrupada, independente da presença do fármaco. A topografia das nanopartículas sem tamoxifeno revela uma superfície lisa e contínua (Figura 6). Por outro lado, a sua presença pode ser observada com nitidez na superfície das nanopartículas quando o fármaco é adicionado ao sistema (Figura 7). Kumar & Verma (2015) também obtiveram nanopartículas poliméricas esféricas e com superfície lisa observadas por AFM. Esses autores justificam a ausência de rugosidade pela natureza elástica do polímero, que se adapta às diferentes condições e se molda, reduzindo possíveis imperfeições superficiais. Kulhari & Pooja (2014) sintetizaram nanopartículas poliméricas para liberação de fármacos utilizados no tratamento de câncer que, em consonância com os resultados anteriores, apresentaram morfologia esférica e superfície regular. A Figura 6 permite observar a amostra F1, nitidamente menor e sem fármaco na sua superfície, sugerindo que o mesmo se encontra no interior da partícula.

Figura 6. Análise morfológica por microscopia de força atômica de nanopartículas poliméricas de GCA após a incorporação do TMX no sistema F1.

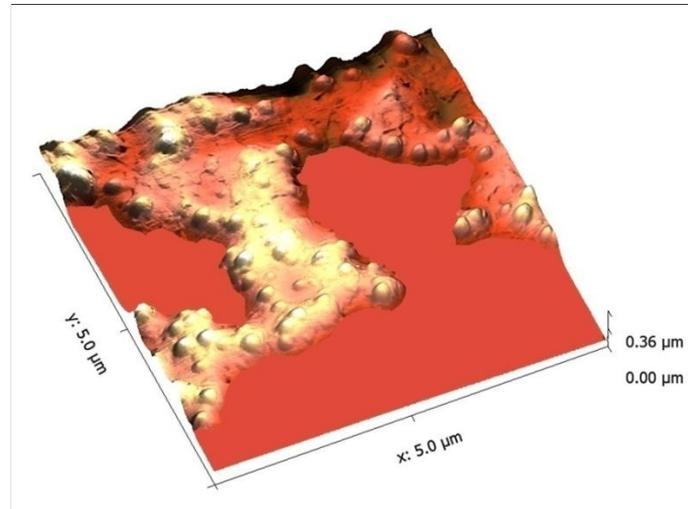
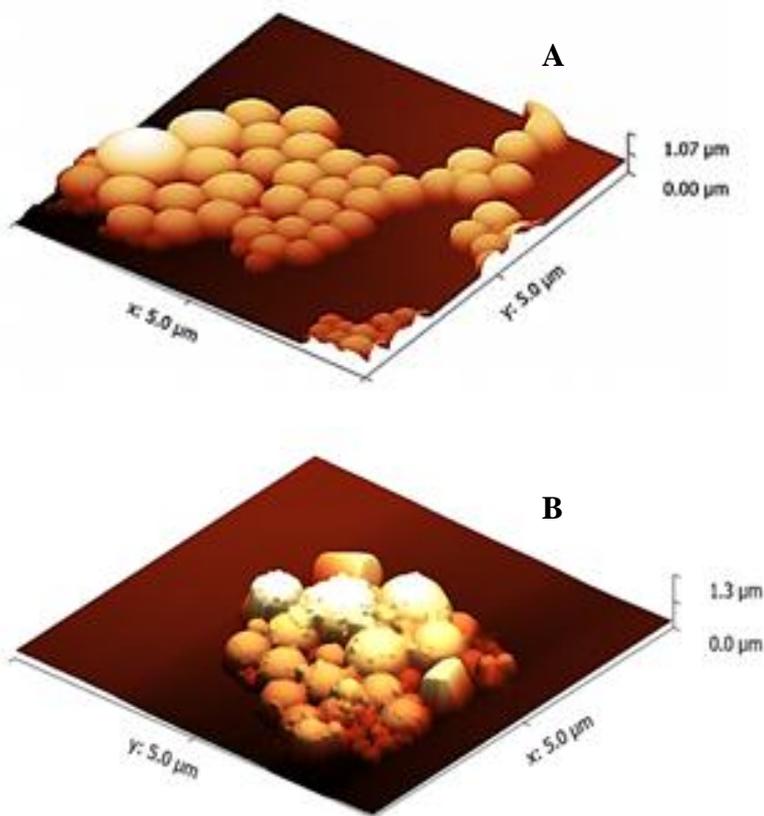


Figura 7. Análise morfológica por microscopia de força atômica de nanopartículas poliméricas de GCA. (A) C2. (B) F2.



### 3.1.3 Análise de Rastreamento de Partícula (ARP)

A ARP é uma técnica que permite estimar a quantidade de partículas presentes em uma amostra e relacioná-la com o volume. As primeiras imagens correspondem às nanopartículas obtidas utilizando acetona como solvente inicial (Figura 8). Analisando os resultados correspondente às nanoestruturas sem fármaco, a concentração encontrada foi de  $18,75 \pm 0,07 \times 10^9$  partículas/mL. Quando o fármaco foi adicionado ao sistema observou-se uma grande redução na concentração de partículas  $0,81 \pm 0,01 \times 10^9$  partículas/mL. As imagens acima de cada gráfico foram obtidas através de fotografias dos vídeos gerados pelo equipamento.

Figura 8. Concentração de nanopartículas em função do tamanho, obtidas com acetona  
A) C2 B) F2.

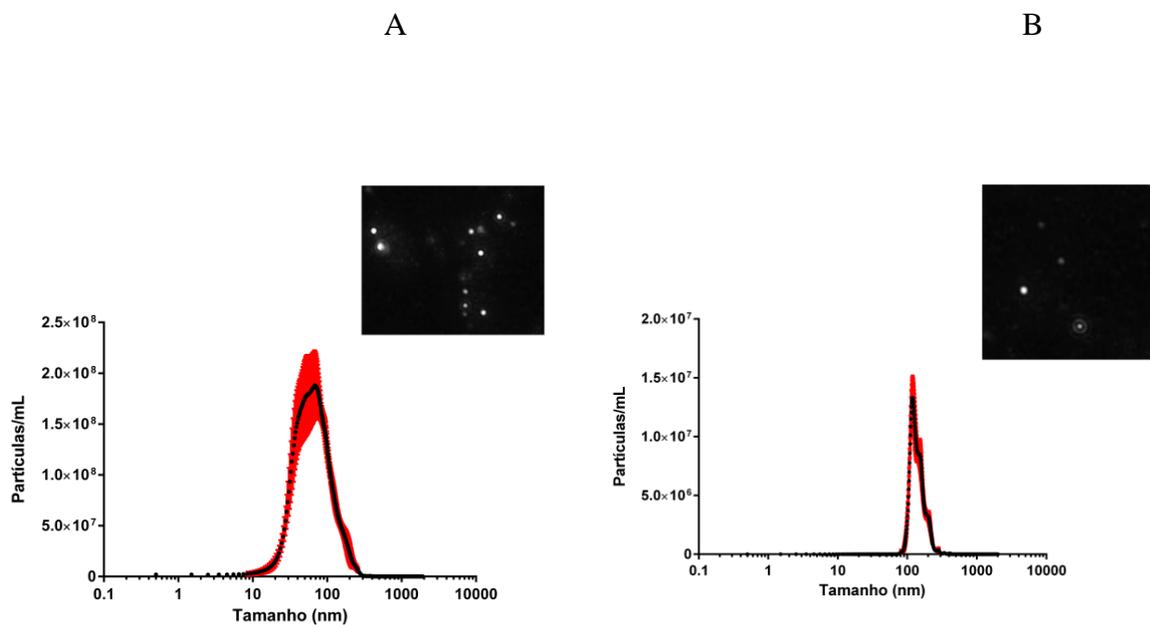
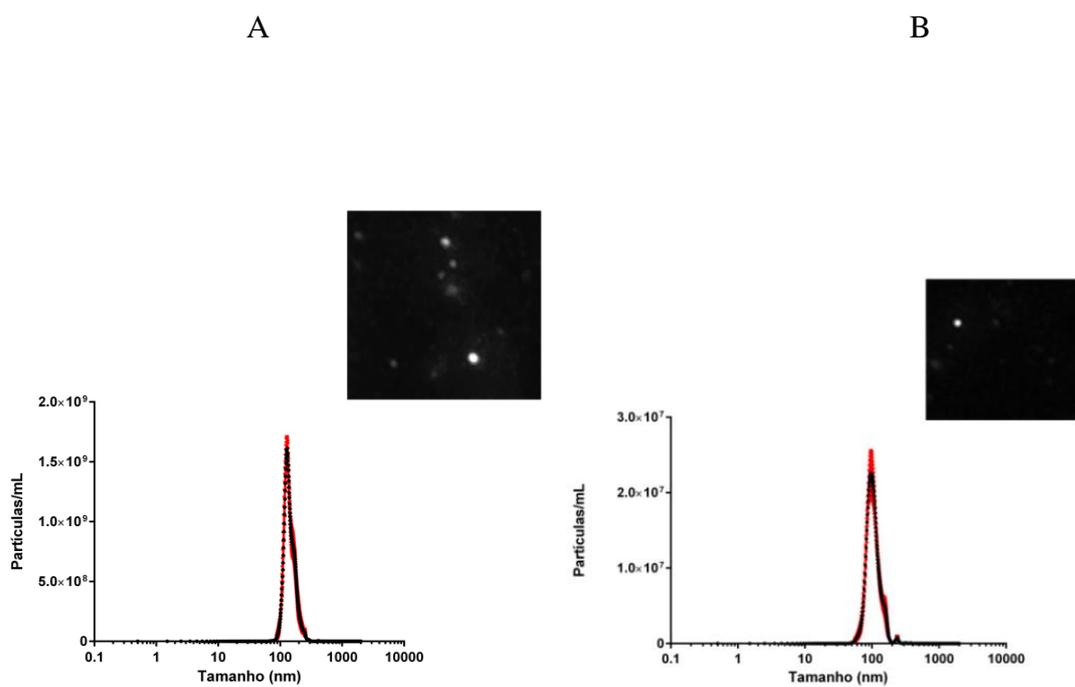


Figura 9. Concentração de nanopartículas em função do tamanho, obtidas com DMSO  
A) C1 B) F1.



A Figura 9 foi construída a partir dos dados obtidos das nanopartículas sintetizadas quando o DMSO foi utilizado como solvente inicial. O padrão de comportamento em relação à concentração se repetiu: a amostra controle apresenta um volume muito maior de partículas por mL:  $92,41 \pm 0,03 \times 10^9$ , quando comparado com a amostra contendo fármaco:  $1,19 \pm 0,09 \times 10^9$  partículas por mL. Pode-se concluir que, em geral, há uma distribuição de tamanho monomodal associado com a concentração de partículas. Oliveira et al. (2014) avaliou o impacto da encapsulação de herbicidas por nanopartículas de quitosana e obteve uma concentração de nanopartículas de  $9,09 \pm 0,70 \times 10^{12}$  partículas/mL para a amostra controle. No entanto, ao adicionar o fármaco não houve diferença significativa na concentração da amostra:  $11,75 \pm 0,64 \times 10^{12}$  partículas/mL.

### 3.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada com os microorganismos *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, representantes de bactéria Gram-positiva, Gram-negativa e da classe dos fungos, respectivamente. Os testes realizados com a bactéria *E. coli* não apresentaram diferença significativa entre o controle positivo e as substâncias testadas, como pode ser visto na Figura 10 .

O microorganismo *C. albicans* foi o escolhido para representar a classe dos fungos no teste antimicrobiano, pois representa o fungo patogênico humano mais comum, além disso, é responsável por infecções sanguíneas em pacientes hospitalizados (Krysan, & Didone, 2008; Dolan, et al. 2009).

A partir da análise da tabela 6 e da Figura 11 referente aos dados do teste de contato direto em *C. albicans* é possível observar que a amostra C1 apresentou maior efeito inibitório, correspondente a 81,2%, em comparação com todas as outras amostras,

mesmo aquelas onde o TMX estava presente. Esse resultado comprova o caráter fungicida da CGA, que atua sobre o microorganismo através de um mecanismo ainda não identificado. O controle C2 também apresentou efeito inibitório para o crescimento de colônias do fungo, no entanto em uma menor proporção, 18,7%. Essa diferença no valor do efeito inibitório entre as duas amostras pode ser explicada pela alta concentração de nanopartículas presentes em C1, aproximadamente 92,4 bilhões de partículas /mL, e por essa amostra apresentar as menores partículas dentre os sistemas analisados, com 81,3 nm. Apesar da amostra C2 também apresentar uma razoável concentração de partículas /ml 18,7 bilhões, esse valor é 79% inferior à concentração da amostra C1 (Tabela 4).

A membrana celular dos fungos apresenta uma composição formada por glicanos, polissacarídeos solúveis e insolúveis e quitina, apresentando caráter hidrofóbico. Essa característica parece facilitar a passagem de moléculas pequenas também insolúveis em água pela membrana da *C. albicans* (Toenjes, et al, 2005).

As amostras contendo o fármaco, F1 e F2, apresentaram concentrações de 1,19 e 0,84 bilhões de partículas / ml, respectivamente. No entanto, a amostra F1 apresenta TMX mais facilmente disponível (exposto na matriz polimérica da nanopartícula), e em maior concentração, visto que a eficiência de encapsulação para esse sistema foi de 37,7%. Enquanto isso, na amostra F2, o fármaco encontra-se no interior da estrutura o que dificulta o seu acesso. Além disso, esse sistema apresenta eficiência de incorporação de 34,7% (Tabela 4). Como ambos os sistemas apresentaram efeito inibitório semelhante, e levando em consideração que as amostras permaneceram durante o mesmo tempo em contato com as bactérias, é possível que a maior parte do TMX tenha sido liberado, em ambos os casos.

Tabela 4. Relação entre dados de caracterização e efeito inibitório.

Amostra	Concentração (10 <sup>9</sup> /ml)	Tamanho (nm)	Eficiência de Incorporação (%)	Ef.Inib. ( <i>C. albicans</i> ) (%)	Ef.Inib. ( <i>S. aureus</i> )
C1	92,4	81,3		81,2	36,9
F1	1,19	110,0	37,7	46,2	30,9
C2	18,75	115,7		18,7	19,9
F2	0,84	202,2	34,7	46,2	66,9

Ef. Inib. : Efeito inibitório

Segundo Dolan et al. (2009) o potencial fungicida do TMX é causado pela perturbação na membrana celular do fungo além da indução de um desequilíbrio na homeostase do cálcio, a partir de interferência com a calmodulina. Este autor realizou testes utilizando concentrações do fármaco, diluído em DMSO, que variaram entre 8 e 64 µg / mL. No presente trabalho foram testadas concentrações de 8 µg / mL de TMX na amostra F1 e 7,3 µg / mL para a amostra F2.

É provável que a capacidade antifúngica do tamoxifeno seja gerada por uma série de fatores e não apenas a partir de um mecanismo, o que leva a crer que o TMX atua provocando a morte direta do organismo e inibindo a sua virulência.

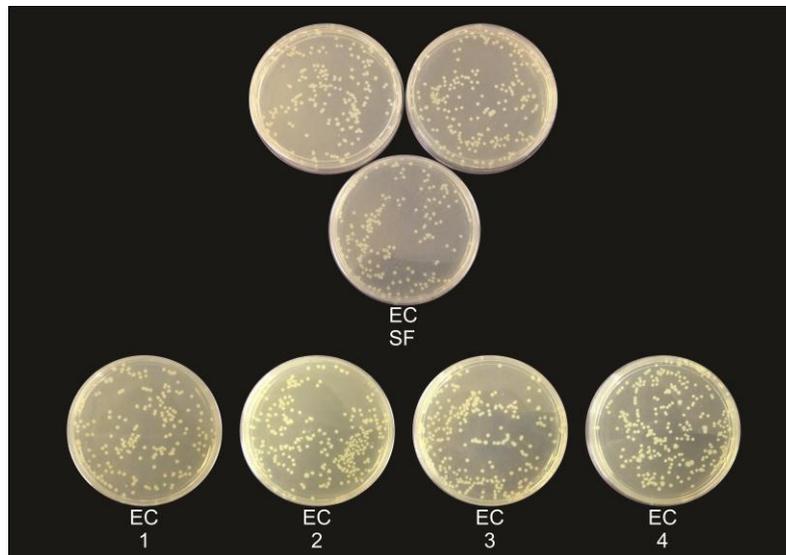
No caso da calmodulina o TMX se liga a essa proteína, por um mecanismo ainda não elucidado. A calmodulina e o cálcio são fundamentais para a ativação da calcinerina, uma enzima que representa um importante sinalizador celular regulatório. Funções da calcinerina, em *C. albicans*, incluem transmissão de respostas celulares referentes a estresses ambientais e causados por antifúngicos além do controle da morfogênese e do ciclo celular. O efeito fungistático do TMX pode estar relacionado

com a sua capacidade de provocar a paralisação do ciclo celular na fase G1 (Dolan, et al, 2009; Di Benedette, 2012).

Os ensaios com *E. coli* e *S. aureus* (Figuras 10 e 12) comprovaram que diferenças existentes entre as estruturas de membrana de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas são determinantes na resistência ou susceptibilidade à entrada de qualquer substância no interior da célula. Assim, apesar da inatividade das nanopartículas, na concentração utilizada, contra a *E. coli*, houve resultados significativos no efeito inibitório sobre a *S. aureus*. Uma explicação para esse fenômeno pode estar relacionada à capacidade que as nanopartículas possuem de atravessar rapidamente a membrana celular de bactérias Gram-negativas, devido ao seu reduzido tamanho e a baixa concentração de peptidoglicanos na membrana desse microorganismo. Isso pode alterar ou inativar a estrutura protéica da célula, levando à sua morte (Quelemes, et al, 2013).

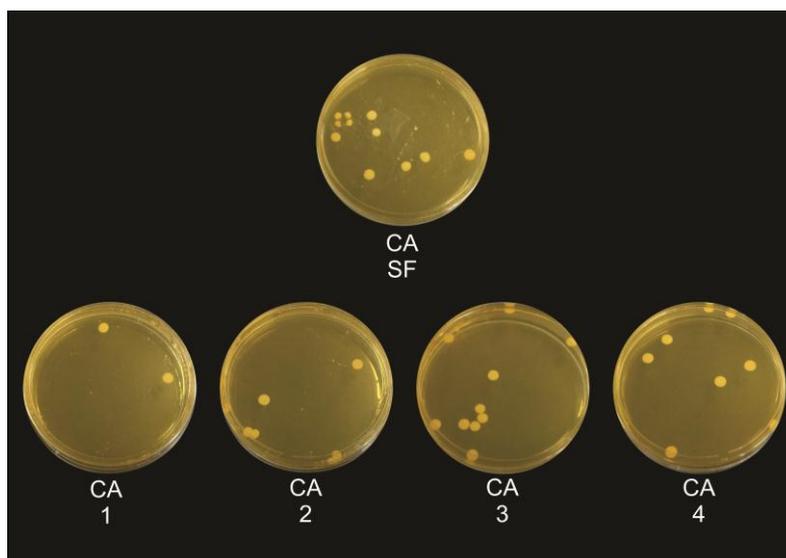
Além do tamanho, a carga superficial da partícula também interfere na permeabilidade. Nesse trabalho todas as nanopartículas apresentaram carga negativa, o que pode ter facilitado a penetração no microorganismo, visto que o mesmo também apresenta predominância de cargas negativas na sua superfície.

Figura 10. Representação do teste de contato direto em *E. coli*.



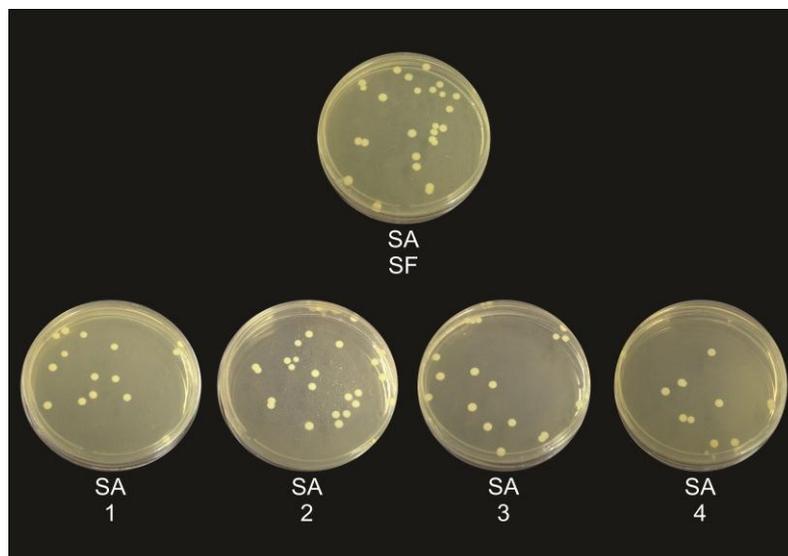
Fonte: Autoria própria.

Figura 11. Representação do teste de contato direto com *C. albicans*.



Fonte: Autoria própria.

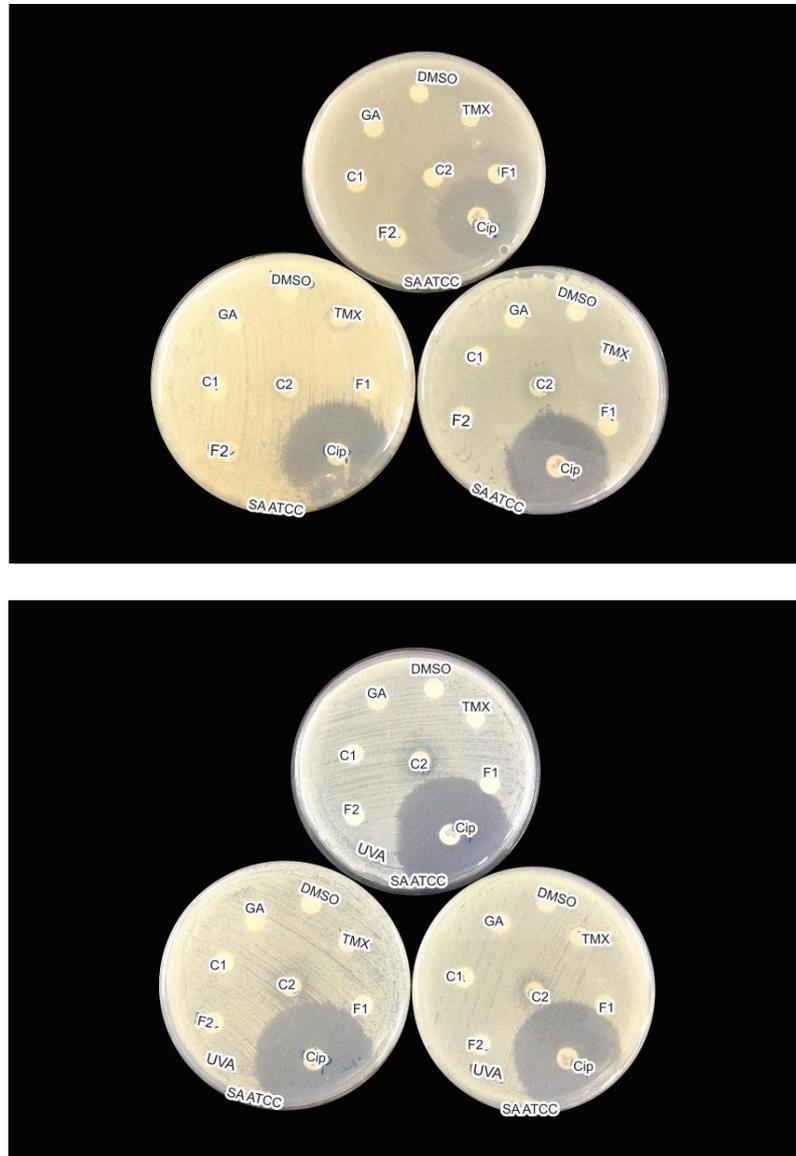
Figura 12. Representação do teste de contato direto com *S. aureus*.



Fonte: Autoria própria.

O teste de difusão em disco mostrou que a presença ou ausência de luz UV não interfere de forma significativa na atuação dos componentes das amostras sobre seu potencial bactericida contra *S. aureus*. No entanto, como o efeito inibitório foi inexpressivo nesse teste, possivelmente as substâncias não se difundiram pelo disco com fluidez suficiente para atingir as placas, o que pode ser vantajoso no sentido que o objetivo de aplicação desse material é tópico.

Figura 13. Teste de difusão em disco em *S.aureus*.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 5. Efeito inibitório em relação a *S. aureus*.

Amostra	P1	P2	P3	$\bar{X}$	Efeito Inibitório
SF	35	38	27	33,3	
C1	24	15	24	21	36,9
F1	28	16	25	23	30,9
C2	20	22	39	27	19,9
F2	12	12	9	11	66,9

P: placas

X: média dos valores

Tabela 6. Efeito inibitório em relação a *C. albicans*.

Amostra	P1	P2	P3	$\bar{X}$	Efeito Inibitório
SF	11	21	16	16	
C1	2	4	3	3	81,2
F1	10	7	9	8,6	46,2
C2	15	13	11	13	18,7
F2	11	7	8	8,6	46,2

P: placas

X: média dos valores

#### 4. CONCLUSÃO

Após a análise do conjunto dos resultados apresentados no trabalho podemos inferir que a goma do cajueiro acetilada é eficaz para a incorporação de tamoxifeno através da rota de síntese por diálise e, de acordo com o solvente inicial utilizado, algumas características dessas nanoestruturas podem ser controladas como: tamanho, localização do tamoxifeno na partícula e concentração das nanopartículas. Dessa forma, para a aplicação tópica desse sistema na liberação controlada de fármacos, a síntese utilizando-se dimetilsulfóxido como solvente inicial é promissora por alojar o medicamento no interior da nanoestrutura.

Além disso, partículas menores e mais concentradas mostraram uma maior atividade contra os microorganismos *S. aureus*, muito embora o efeito inibitório sobre *C. albicans* tenha sido semelhante para ambos os sistemas testados. Por fim, não foram observadas diferenças significativas na atividade contra *S. aureus* na presença ou ausência de luz, o que indica fotoestabilidade das nanopartículas incorporadas com TMX.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Avnesh, K., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces*, 75, 1-18.

Barkalina, N., Charalambous, C., Jones, C., & Coward, K. (2014). Nanotechnology in reproductive medicine: emerging applications of nanomaterial. *Nanomedicine*, 10, 921-938.

Barra, A. A., dos Santos, A. M. R., de Barros, C. P., Silveira, D. S., Balabram, D., Soares, K. F. & Trota, S. T. A. (2013). Avaliação endometrial em pacientes usuárias de tamoxifeno, *Femina*, 41, 5-8.

Coimbra, P. M. A. (2010). Preparação e caracterização de sistemas de liberação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural. Tese doutorado em Engenharia Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Portugal.

de Oliveira, J. L., Campos, E. V. R., Da Silva, C. M. G., Pasquoto, T., Lima, R., & Fraceto, L. F. (2014). Solid lipid nanoparticles co-loaded with Simazine and Atrazine: preparation, characterization, and evaluation of herbicidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 422-432.

de Paula, H. C. B., Sombra, F. M., Cavalcante, R. F., Abreu, F. O. M. S., & De Paula, R. C. M. (2011). Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippiasidoides* essential oil. *Material Science and Engineering C*, 31, 172-178.

de Paula, R. C. M., Heatley, F., & Budd, P. M. (1998). Characterization of *Anacardium occidentale* exsudates polysaccharide. *Polymer International*, 45, 27-35.

Di Benedette, J. P. T. (2009) Caracterização molecular das subunidades catalítica e regulatória da calcineurina no fungo patogênico *Paracoccidioides brasiliensis*. Tese de Mestrado em Ciências. Universidade de São Paulo.

Dolan, K., Montgomery, S., Buchheit, B., DiDone, L., Wellington, M., & Krysan, D. J. (2009). Antifungal activity of tamoxifen: in vitro and in vivo activities and mechanistic characterization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 3337-3346.

Dolan, K., Montgomery, S., Buchheit, B., DiDone, L., Wellington, M., & Krysan, D. J. (2009). Antifungal Activity of tamoxifen: in vitro and in vivo activities and mechanistic characterization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 3337-3346.

e Silva, M. C. C. *et al.* (2013). Prospecção tecnológica: aplicações da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. *Anais SINTEC*, 1,567-580.

Errico, C., Bartoli, C., Chielline, F., & Chielline, E. (2009). Poly (hydroxyalkanoates) – based polymeric nanoparticles for drug delivery. *Journal of Biomedicine and biotechnology*, 2009, 1-10.

Filipe, V., Hawe, A., & Jiskoot, W. (2010). Critical evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by nanosight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. *Pharmaceutical Research*, 27, 796-810.

Florêncio, A. P. S., Melo, J. H. L., Mota, C. R. F. C., Melo-Junior, M. R., & Araújo, R. V. S. (2007). Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeos (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. *Revista Eletrônica de Farmacologia*, 4, 61-65.

Graghani, A., Warde, M., Furtado, F., & Ferreira, L. M. (2010). Topical tamoxifen therapy in hypertrophic scars or keloids in burns. *Archives of Dermatological Research*, 302, 1-4.

Hassan, P. A., Rana, S., & Verma, G. (2015). Making sense of Brownian motion: colloid characterization by dynamic light scattering. *Langmuir*, 31, 3-12.

Jeon, Y. L., Jeong, M. K., Jang, Y. H., & Park, J. W. (2000). Effect of solvent on the preparation of surfactant-free poly (D, L-lactide – L-lactide – co – glycolide) nanoparticles and norfloxacin release characteristics. *International Journal Pharmaceutics*, 207, 99-108.

Jordan, V. C. (2014). Tamoxifen as the first targeted long term adjuvant therapy for breast cancer, *Endocrine-Related Cancer*, 21, 235-246.

Karaca, T., Gözalan, A. U., Yoldaş, O., Bilgin, B. Ç., & Tezer, A. (2013). Effects of tamoxifen citrate on postoperative intra-abdominal adhesion in a rat model. *International Journal of Surgery*, 11, 68-72.

Khuroo, T., Verma, D., Talegaonkar, S., Padhi, S., Panda, A. K., & Iqbal, Z. (2014). Topotecan-tamoxifen duple PLGA polymeric nanoparticles: investigation of in vitro, in vivo and cellular uptake potential. *International Journal of Pharmaceutics*, 473, 384-394.

Kim, J. H., Kim, Y. S., Park, J. H., Kim, K., Choi, K., Chung, H., Jeong, S. Y., Park, R. W., Kim, I. S., & Kwon, I. C. (2006). Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel. *Journal of Controlled Release*, 111, 228-234.

Kouchakzadeh, H., Shojaosadati, S. A., & Shokri, F. (2013). Efficient loading and entrapment of tamoxifen in human serum albumin based nanoparticulate delivery system by a modified desolvation technique. *Chemical Engineering Research and Design*, 447, 62-69.

Krysan, D. J., & DiDOne, L. (2008). A high-throughput screening assay for small molecules that disrupt yeast cell integrity. *Journal of Biomolecular Screening*, 13, 657-664.

Kulhari, H., Pooja, D., Shrivastana, S., Naidu, V. G. M., & Sistla, R. (2014). Peptide conjugated polymeric nanoparticles as carrier for targeted delivery of docetaxel. *Coolloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117, 166-173.

Kumar, V. D., Verma, P. R. P., & Sing H. S. K. (2015). Development and evaluation of biodegradable polymeric nanoparticles for the effective delivery of quercetin using a quality by design approach. *LHT - Food Science and technology*, 61, 330-338.

Maji, R., Dey, N. S., Satapathy, B. S., Mukherjee, B., & Mondal, S. (2014). Preparation and characterization of Tamoxifen citrate loaded nanoparticles for breast cancer therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 3107-3118.

Meier, C. R., Jick, S. s., Derby, L. E., Vasilakis, C., & Jick, H. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomized trials, *The Lancet*, 351, 1451-1467.

Melo, W. C. M. A, & Perussi, J, R. (2012). Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 33, 331-340.

Miguel, D. C., Yokoyama-Yasunaka, J. K. U., Andreoli, W. K., Mortara, R. A., & Uliana, S. R. B. (2007). Tamoxifen is effective against *Leishmania* and induces a rapid alkalization of parasitophorous vacuoles harbouring *Leishmania (Leishmania) amazonensis* amastigotes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 526-534.

Mikulec, A. A., Hanasono, M. M., Lum, J., Kadleck, J. M., Kita, M., & Koch, J. (2001). Effect of tamoxifen on the transforming growth factor  $\beta_1$  production by keloid and fetal fibroblasts. *Archives of Facial Plastic Surgery*, 3, 111-114.

Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 385, 113-142.

Moreno-Bautista, G., & Tam, K. C. (2011). Evaluation of dialysis membrane process for quantifying the in vitro drug release from colloidal drug carriers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and engineering Aspects*, 389, 299-303.

Motozato, H. I., Tomoda, T., & Hirayama, C. J. (1996). Preparation and gel permeation chromatographic properties of pullulan sphere. *Journal of Chromatographic A*, 355, 434-437.

Nagavarma, B. V. N., Hemant, K. S. Y., Ayaz, A., Vasudha, L. S., & Shivakumar, H. G. (2012). Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles – a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5, 16-23.

Oliveira, E. F., De Paula, H. C. B., & De Paula, R. C. M. (2014). Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids and Surfaces b: Biointerfaces*, 113, 146-151.

Peixoto, A. C. B. (2013). Funcionalização de nanopartículas poliméricas para liberação de medicamentos sítio-dirigida. 177. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Pitombeira, N. A. O., Neto, J. G. V., Silva, D. A., Feitosa, F. P. A., Paula, H. C. B. & Paula, R. C. (2015). Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: characterization and evaluation as potential drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, 117, 610-615.

Quelemes, P. V., Araruna, F. B., de Faria, B. E. F., Kuckelhaus, S. A. S., da Silva, D. A., Mendonça, R. Z., Eiras, C., Soares, M. J. S., & Leite, J. R. S. A. (2013). Development and antibacterial activity of cashew gum-based silver nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 4969-4981.

Sarmah, K. J., mahanta, R., Bhattacharjee, S. K., Mahanta, R., & Biswas, A. (2011). Controlled release of tamoxifen citrate encapsulated in cross-linked guar gum nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49, 390-396.

Shah, R., Eldidge, D., Palombo, E., & Harding, I. (2014). Optimisation and stability of solid lipid nanoparticles using particle size and zeta potential. *Journal of Physical Science*, 25, 59-75.

Toenjes, K. A., Munsee, S. M., Ibrahim, A. S., Jeffrey, R., Edwards Jr., J. E., & Jhonson, D. I. (2005). Small-molecule inhibitors of the budded-to-hyphal-form transition in the pathogenic yeast *Candida albicans*, *Chemotherapy*, 49, 963-972.

Vitorino Filho, R. N. L. (2011). Uso de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Piauí, Teresina.

Vivek, R., Babu, N. V., Thangan, R., Subramanian, K. S., & Kannan, S. (2013). pH responsive drug delivery of chitosan nanoparticles as Tamoxifen carriers for effective anti-tumor activity in breast cancer cells. *Colloids and Surfaces B*, 111, 117-123.

Zafar, N., Fessi, H., & Elaissari, A. (2014). Cyclodextrin containing biodegradable particles: from preparation to drug delivery applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 461, 351-366.

Zhang, H. Z., Gao, F. P., Liu, L. R., Li, X. M., Zhou, Z. M., Yang, X. D., & Zhang, Q. Q. (2009). Pullulan acetate nanoparticles prepared by solvent diffusion method for epirubicin chemotherapy. *Colloids Surfaces B*, 71, 19.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O apelo por desenvolvimento de novas tecnologias envolvendo a utilização de recursos renováveis move a pesquisa nesse sentido. Dessa forma, o desenvolvimento de novos materiais deve levar em consideração essa premissa. Assim, a goma do cajueiro representa um exsudato com potencial terapêutico e propriedades que favorecem a sua utilização para essa finalidade. A partir da sua modificação, a fim de aumentar o seu caráter hidrofóbico, é possível obter nanopartículas capazes de incorporar tamoxifeno. Nesse sentido, partículas com tamanho entre 81,3 e 202,2 foram obtidas e caracterizadas segundo aspectos morfológicos, de concentração e de carga superficial. Além disso, verificou-se a sua capacidade em combater microorganismos com eficácia de até 66,9% em um sistema com fármaco incorporado. Dessa forma, esse novo material apresenta características promissoras no funcionamento como veículo de distribuição de fármacos

## 7. PERSPECTIVAS

- Realizar ensaios de liberação do fármaco a partir da nanopartícula
- Realizar testes de citotoxicidade
- Desenvolver uma formulação em gel
- Submeter as amostras à análise da eficácia *in vivo*