



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
NÚCLEO DE EDUCAÇÃO FÍSICA

CLAUDIANE BARBOSA DE AGUIAR

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CITOTOXICIDADE DE
NANOPARTÍCULAS DE PIBCA (POLI-ISOBUTILCIANOCRILATO) REVESTIDAS
COM POLISSACARÍDEO COMO SISTEMAS SÍTIO- ESPECÍFICOS**

Vitória de Santo Antão

2017

CLAUDIANE BARBOSA DE AGUIAR

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CITOTOXICIDADE DE
NANOPARTÍCULAS DE PIBCA (POLI-ISOBUTILCIANOCRILATO) REVESTIDAS
COM POLISSACARÍDEO COMO SISTEMAS SÍTIO- ESPECÍFICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
colegiado do curso de Graduação em Educação Física,
Centro Acadêmico de Vitória, da Universidade Federal
de Pernambuco em cumprimento ao requisito para
obtenção do grau de Bacharel em Educação Física sob
orientação da Professora Dra. Mariane Cajubá de Britto
Lira Nogueira

Vitória de Santo Antão

2017

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4/2018

A282p Aguiar, Claudiane Barbosa de
Preparação, caracterização e citotoxicidade de nanopartículas de pibca (poli-isobutilcianocrilato) revestidas com polissacarídeos como sistemas sítio-específicos / Claudiane Barbosa de Aguiar. - Vitória de Santo Antão, 2017.
33 folhas; il.

Orientadora: Mariane Cajubá de Britto Lira Nogueira.
TCC (Educação Física) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV,
Bacharelado em Educação Física, 2017.
Inclui referências.

1. Nanopartículas. 2. Fucana. 3. Citotoxicidade. I. Nogueira, Mariane Cajubá de Britto Lira. (Orientadora). II. Título.

620.43 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-256/2017

Folha de Aprovação

Nome da aluna: Claudiane Barbosa de Aguiar

Título: PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CITOTOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE PIBCA (POLI-ISOBUTILCIANOCRILATO) REVESTIDAS COM POLISSACARÍDEOS COMO SISTEMAS SÍTIO- ESPECÍFICOS

Trabalho de conclusão do Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Educação Física do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Educação Física

Data: 01 de Dezembro de 2017

Nota:

Banca Examinadora:

Profª. Dra. Rafaela de Siqueira Ferraz Carvalho (UFPE)

Profª. Dra. Milena Sales Ferraz (LIKA)

Profª. Dra. Mariane Cajubá de Britto Lira Nogueira (CAV/UFPE)

Suplentes: Profª. Dra. Isabella Macário Cavalcanti (CAV/UFPE)

Profª. Dra. Noemia Pereira Silva Santos (CAV/UFPE)

Dedico este trabalho aos meus pais (Maria Gomes e José Aguiar) por todo apoio, amor e dedicação, aos meus professores, irmãos e todos aqueles que contribuíram para minha formação profissional direta ou indiretamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom mais precioso a vida! Por estar sempre presente me abençoando e protegendo.

Aos meus amados e queridos pais (Maria Gomes e José Aguiar) pelo carinho, amor, incentivo, ensinamentos e compreensão diante dos obstáculos da vida.

Aos meus irmãos (Gisele Aguiar, Alberes Aguiar, Rosangela Aguiar e Elane Aguiar) por fazerem parte da minha trajetória de vida.

A professora Dra. Mariane Lira pela confiança durante dois anos de pesquisa no grupo da nanotecnologia. Pelas boas risadas e compreensão minha eterna gratidão!

Aos docentes pela orientação e transmissão de conhecimentos fazendo com que descobríssemos a essência da realidade dano-nos a condição de uma visão crítica, para que não tropeçássemos na obscuridade da ignorância, aos mesmos meus sinceros agradecimentos.

Aos funcionários da biblioteca do CAV-UFPE pelo suporte de livros didáticos. Aos Laboratórios Imunopatologia Keizo-Asami, (LIKA-UFPE) e NanoBioCel (CAV-UFPE), pela atribuição de equipamentos e espaços físicos para realização dos experimentos necessários para execução deste trabalho .

A minha querida família Aguiar e Barbosa pela torcida!

Aos meus colegas de formação acadêmica meus agradecimentos pela força e por compartilharmos juntos momentos tristes e alegres durante nossa trajetória acadêmica.

Ao PIBIC- UFPE (Programa institucional de Bolsas de Iniciação Científica) pelo apoio financeiro durante o período vigente da iniciação científica .

A todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para minha formação acadêmica meus sinceros agradecimentos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi inicialmente preparar e caracterizar nanopartículas de PIBCA (poli-isobutilcianoacrilato) revestidas com fucana e em seguida avaliar a citotoxicidade das formulações em macrófagos J774. A fucana foi escolhida por apresentar várias atividades biológicas, ser de fácil extração e baixo custo, o que torna a sua utilização atrativa para o revestimento de nanocarreadores. As nanopartículas foram preparadas pelo método de polimerização aniônica utilizando monômero isobutilcianoacrilato (IBCA) e a fucana em diferentes proporções (0, 25 e 100%). Na caracterização físico-química, o aspecto macroscópico, o tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta foram analisados. A estabilidade das formulações em meio de cultura foi analisado observando-se aparecimento de agregados e/ou precipitação. Finalmente a citotoxicidade foi avaliada em macrófagos J774 pelo método MTT com concentrações que variaram de 1 a 120µg/mL. Em relação ao tamanho observou-se que o aumento da concentração da fucana influenciou o tamanho das partículas passando de $254,4 \pm 5,2\text{nm}$ para $495,4 \pm 17,6\text{nm}$ nas formulações sem fucana (0%) e com 100%, respectivamente. Apesar das mudanças no tamanho, o PDI apresentou valores baixos o que indica homogeneidade no tamanho das partículas. Observou-se que o aumento do percentual do polissacarídeo diminuiu o potencial zeta ($-55,3 \pm 1,4\text{nm}$), ou seja, tornou a superfície mais negativa, resultado esperado uma vez que a fucana é um polissacarídeo que apresenta carga negativa. Não foi observado aparecimento de precipitados ou agregados das nanopartículas após contato com o meio de cultura, indicando que as formulações permaneceram estáveis. Finalmente, as nanopartículas obtidas não foram tóxicas para as células, não houve diferença estatística entre as formulações, sugerindo que não foi citotóxica na faixa de concentração utilizada.

Palavras-chave: Nanopartículas. Fucana. Citotoxicidade.

ABSTRACT

The purpose of this work was to initially prepare and characterize nanoparticles of PIBCA (polyisobutylcyanoacrylate) coated with fucoidan and then to evaluate the cytotoxicity of the formulations in macrophages J774. The fucoidan was chosen because it has many biological activities, is easy to extract and low cost, which makes their use attractive for the nanocarriers coating. The nanoparticles were prepared by the anionic polymerization method using isobutyl cyanoacrylate monomer (IBCA) and fucoidan in different proportions (0, 25 and 100%). In the physical-chemical characterization, the macroscopic appearance, particle size, polydispersity index (PDI), zeta potential were analyzed. Finally, cytotoxicity was evaluated in J774 macrophages by the MTT method with concentrations ranging from 1 to 120 $\mu\text{g} / \text{mL}$. In relation to the size, it was observed that the increase of the concentration of fucoidan influenced the particle size from $254.4 \pm 5.2\text{nm}$ to $495.4 \pm 17.6\text{nm}$ in the formulations without fucoidan and with 100%, respectively. Despite the changes in size, the PDI presented low values indicating homogeneity in particle size. It was observed that increasing the percentage of the polysaccharide decreased the zeta potential, the zeta potential ($-55.3 \pm 1.4\text{nm}$), ie, rendered the surface more negative, an expected result since fucana is a polysaccharide with a negative charge. The obtained nanoparticles were non-toxic to cells and there was no statistical difference among the formulations, suggesting that there was no cytotoxicity in the stability range of the culture medium.

Keywords: Nanoparticles. Fucoidan. Cytotoxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Sistemas terapêuticos convencionais e de liberação controlada referente ao tempo <i>versus</i> concentração de fármaco.....	6
Figura 2	Representação esquemática da técnica de emulsificação-evaporação.....	8
Figura 3	Citotoxicidade de nanopartículas revestidas com fucana expressa em IC ₅₀ (ug/mL) em macrófagos J774. AEP, AEP-Fuc-25 e AEP-Fuc-100 contêm, 0, 25 e 100% de fucana.	15
Tabela 1	Principais atividades biológicas do polissacarídeo fucana.....	11
Tabela 2	Características físico-químicas de nanopartículas de PIBCA revestidas com fucana em diferentes concentrações (0, 25 e 100%).	14

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

AEP	Polimerização por Emulsão Aniônica
Au NP _s	Ouro
AEP	Nanopartículas sem fucana
AEP-Fuc	Nanopartículas com fucana
DMSO	Dimetilsulfóxido
IC ₅₀	Concentração 50% de inibição
IBCA	Isobutilcianoacrilato
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asimi
MTT	Brometo tiazolil de tetrazólio
NP _s	Nanopartículas
NP _s Au	Nanopartículas de Ouro
NP _s de Ag	Nanopartículas de Prata
PEG	Polietilenoglicol
PIBCA	Poli-isobutilcianoacrilato
PDI	Índice de Polidispersão
RPMI	Instituto memorial Roswell Park

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 JUSTIFICATIVA	13
4 HIPÓTESE	14
5 REVISÃO DA LITERATURA	15
5.1 Nanotecnologia e Sistemas de Liberação Controlada	15
5.2 Lipossomas	16
5.3 Micelas	17
5.4 Tipos de Nanopartículas	17
5.5 Nanopartículas Poliméricas	17
5.6 Nanopartículas de Cerâmica	19
5.7 Nanopartículas Metálicas	19
5.8 Classificação das Nanopartículas	19
5.8.1 Nanopartículas Convencionais	19
5.8.2 Nanopartículas Furtivas	20
5.8.3 Nanopartículas Sítio-Específicas	20
5.9 Polissacarídeos Sulfatados	21
6 METODOLOGIA	23
7 RESULTADOS	25
8 DISCUSSÃO	27
9 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

O uso de sistemas de liberação controlada na escala nanométrica representa, sem dúvida, um grande avanço no tratamento e diagnóstico de várias doenças. Desde os primeiros nanosistemas desenvolvidos, pesquisadores têm focado na modificação estrutural destes sistemas com o objetivo de melhorar a eficácia e diminuir os aspectos indesejáveis de alguns compostos bioativos encapsulados (SAKATA et al., 2007).

Em se tratando de nanopartículas, uma importante modificação está relacionada à superfície, como por exemplo, a adição de moléculas como polietilenoglicol - PEG (PALMA et al., 2014), peptídeos (VALETTI et al., 2014), polissacarídeos (LEMARCHAND et al., 2004), anticorpo (KOUCHAKZADEH et al., 2013) entre outros compostos.

O objetivo que impulsiona a modificação da superfície das nanopartículas relaciona-se ao aumento do tempo de circulação e ao direcionamento do fármaco a tecidos ou células alvo, e consequentemente aumento da eficácia terapêutica. Descreve-se na literatura a obtenção de sistemas sítio-específicos através da utilização de ligantes químicos como moléculas sinalizadoras. No entanto, estes compostos apresentam custo elevado, com baixo rendimento final, fazendo com que diminuam as chances de se desenvolver um novo produto (GREF et al., 1994).

Neste contexto, a utilização de polissacarídeos sulfatados de algas marrons torna-se uma alternativa promissora para revestimento de nanocarreadores. Assim, a escolha da fucana deve-se ao fato de que este polissacarídeo apresenta várias atividades biológicas (LIN et al., 2011) dentre elas a ação contra a bactéria *Helicobacter pylori* a capacidade de estimular a produção de muco, protegendo a mucosa gástrica. Além disso, a fucana apresenta facilidade de extração, baixo custo de obtenção, o que torna a sua utilização atrativa para o revestimento de nanocarreadores e obtenção de sistemas sítio-específicos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi inicialmente a preparação e caracterização de nanopartículas de PIBCA (poli-isobutilcianoacrilato) revestidas com fucana e em seguida avaliação da estabilidade frente a meio de cultura e estudo da citotoxicidade das formulações obtidas em macrófagos J774.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Preparar, caracterizar e avaliar a citotoxicidade de nanopartículas de PIBCA revestidas com fucana.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparar nanopartículas PIBCA revestidas com polissacarídeos pelos métodos de polimerização por emulsão aniônica (AEP);
- Caracterizar as nanopartículas obtidas, através do aspecto macroscópico, da avaliação do tamanho médio das partículas e da carga de superfície;
- Avaliar a estabilidade das nanopartículas com diferentes percentuais de polissacarídeos em meio de cultura;
- Avaliar a citotoxicidade das nanopartículas em macrófagos J774.

3 JUSTIFICATIVA

O presente projeto trata-se de uma linha de pesquisa de caráter multidisciplinar, que busca o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos, baseado na nanotecnologia para tratamento de infecções gástricas causadas pela *Helicobacter pylori*. Atualmente há um grande interesse tanto no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, como na utilização de compostos bioativos que sejam eficazes nas infecções gástricas a exemplo daquelas causadas pela *Helicobacter pylori*. O presente projeto engloba as duas estratégias, uma vez propõe o desenvolvimento de nanopartículas sítio-específicos utilizando produto natural, a fucana, como molécula sinalizadora para futura utilização contra a bactéria *H. pylori*.

4 HIPÓTESE

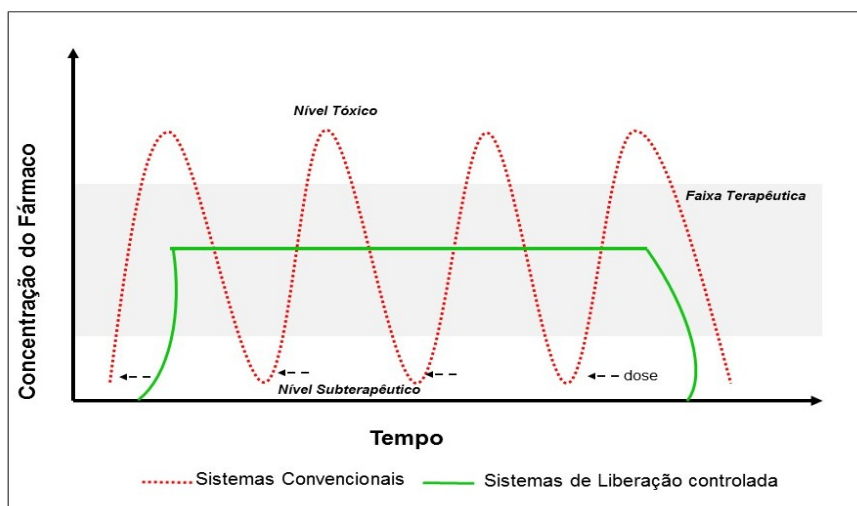
A fucana, um polissacarídeo sulfatado extraído de algas marrons, pode ser utilizada como molécula de revestimento de nanopartículas de PIBCA.

5 REVISÃO DA LITERATURA

5.1 Nanotecnologia e Sistemas de Liberação Controlada

A nanotecnologia é uma área exponencial que envolve o manuseio de propriedades e estruturas ao nível de nanoescala, apresentando muitas vantagens e peculiaridades que em uma escala maior não são possíveis. A combinação da nanotecnologia com aplicações médicas trouxe o aparecimento de um novo campo chamado nanomedicina (KHEMTONG; KESSENGER et al., 2013). Um mecanismo importante para o desenvolvimento da nanomedicina são os sistemas de liberação controlada, que ganharam uma atenção especial nos últimos anos. Esses sistemas expandiram novas maneiras de modificar a biodistribuição dos princípios ativos na farmacocinética, melhorando tanto a sua biodisponibilidade como reduzindo os efeitos colaterais (NASONGKLA; BEY, et al., 2006; FENG et al., 2001). Os sistemas de liberação controlada, também denominados vetores de liberação, são dispositivos eficazes na entrega de substâncias biologicamente ativas, objetivando o controle da liberação na faixa terapêutica, tempo e local de ação (LEE; YEO, 2014). Tem como objetivo principal o controle constante da manutenção das concentrações dos compostos ativos, que estão entre as concentrações mínimas efetivas e mínimas tóxicas por um prolongado período de tempo (MUNOZ; ALICE; LI, 2015; LEE; YEO, 2014). Nesse sistema de liberação busca-se modificar a liberação controlada de fármacos para obter uma atividade mais rápida, mais prolongada, mais regular e mais específico, por longo tempo (DEVISSAGUET; GUYOT; HERMAM, 1982). A liberação controlada pode ser um processo mais lento que a liberação convencional, pois mostra que esta liberação modifica as constantes concentrações para manter nos níveis plasmáticos eficazes, na liberação de determinada concentração de fármacos de forma reprodutível (RABASCO, 1997). Assim, a liberação controlada de fármacos, em relação à liberação convencional, apresenta várias vantagens tais como período terapêutico prolongado, eficácia aprimorada e toxicidades sistêmicas reduzidas como mostra a Figura 1 (QIAN et al., 2005; LAINE et al., 2014).

Figura 1: Sistemas terapêuticos convencionais e liberação controlada referente ao tempo *versus* concentração de fármaco.



Fonte: LIRA, 2007 com adaptações.

Existem vários tipos de sistemas de liberação controlada com base nas características químicas, físicas e biológicas como, as nanocápsulas (MORA; HUERTAS; FESSI, 2010), nanoesferas (ZAFAR; FESSI; ELAISSARI, 2013), dímeros (WEBSTER; SUNDARAM; BYREME, 2012), lipossomas, e micelas poliméricas (YANG et al., 2010).

5.2 Lipossomas

Os lipossomas são vesículas esféricas compostas por uma ou mais camadas lipídicas concêntricas, desprendido por um meio aquoso. Eles podem encapsular substâncias hidrofílicas ou lipofílicas, sendo que as hidrofílicas ficam no compartimento interno aquoso e as lipofílicas na bicamada lipídica. Por serem biodegradáveis, biocompatíveis e não imunogênicos os mesmos são altamente versáteis para pesquisa terapêutica e aplicações analíticas (EDWARDS; BAEUMER, 2006; NEW, 1990; PUISILUX et al., 1995). Estas vesículas são constituídas principalmente por fosfolipídios (podendo ser de natureza sintética ou natural), esteróis e um antioxidante (VEMURI, 1995). Os lipídeos mais aplicados nas formulações de lipossomas são os que apresentam uma forma cilíndrica como, por exemplo, as fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e esfingomielina, nas quais essas tendem a formar uma bicamada estável em uma solução aquosa. Portanto as fosfatidilcolinas são mais empregadas em estudos de formulação de lipossomas, pois apresentam grande estabilidade a variações do pH ou na concentração de sal no meio. Os lipossomas podem apresentar uma única bicamada lipídica ou bicamadas múltiplas em voltado compartimento aquoso interno,

sendo desta forma classificados em unilamelar e multilamelar, respectivamente (BATISTA et al., 2007).

5.3 Micelas

Existe também as micelas, que são bem utilizadas na área da nanotecnologia, representam um conjunto de moléculas anfífilas pelas quais se agregam livremente na água e formam uma vesícula esférica. Seu centro é hidrofóbico tendo a capacidade de encapsular fármacos hidrofóbicos. As micelas convencionais são formadas por pequenas moléculas que possui uma cabeça hidrofílica e uma cauda hidrofóbica, composta por hidrocarbonetos de ácidos graxos longos. O tamanho molecular dos surfactantes e outras características físico-químicas irão determinar o tamanho das micelas (RANGEL; YAGIU; TAVARES, 2005).

5.4 Tipos de Nanopartículas

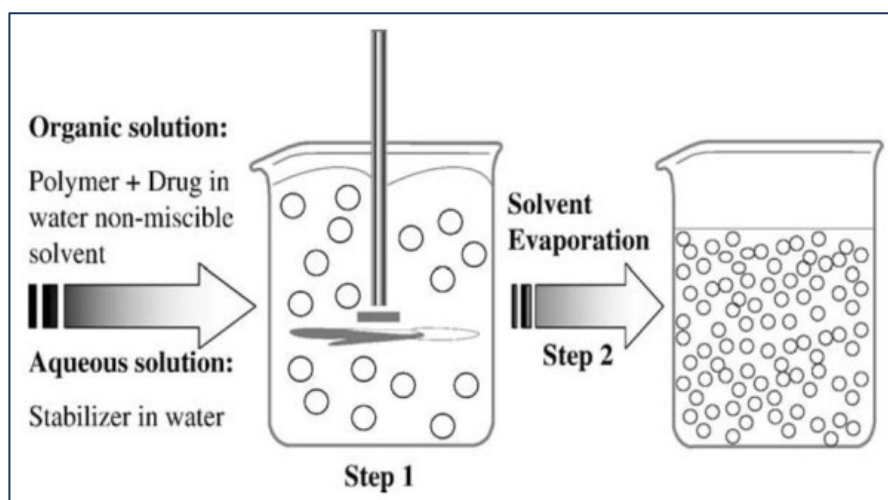
Por definição as nanopartículas (NP) são descritas como um material e/ou propriedade que ocorre em dimensões na escala nanométrica entre 1 e 100 nm (DREADEN et al., 2012).Essas partículas não são consideradas como moléculas simples, entretanto são compostas por três camadas, isto é, a camada superficial pode ser aplicada em uma variedade de moléculas, como exemplo, íons metálicos, surfactantes e polímeros. A camada de coroa que é um material químico divergente do núcleo, e o núcleo que é a porção central das nanopartículas que normalmente remete a própria NP (SHIN et al., 2016).As NPs são divididas em várias classes, dependendo de sua morfologia, tamanho e propriedades químicas baseado em características físicas e químicas, algumas das conhecidas classes das NPs são dadas abaixo.

5.5 Nanopartículas Poliméricas

Nanopartículas Poliméricas apresentam uma escala nanométrica de 10 a 1000nm. São estruturas estáveis, coloidais e sólidas, que podem ser compostas por polímeros naturais ou sintéticos (KREUTER, 2001; MOHANRAJ; CHEN, 2006; KREUTER, 2007). De acordo com sua forma estrutural se classificam em duas classes, nanocápsulas e nanosfera (NICOLAS; COUVREUR, 2009; ARAÚJO et al., 2003). Nanocápsulas são estruturas constituídas por um invólucro polimérico posto em torno de núcleo oleoso. Onde o fármaco pode ser dissolvido no núcleo ou adsorvido na parede polimérica. A nanosfera é formada por uma matriz polimérica, na qual o fármaco pode permanecer retido ou adsorvido (SCHAFFAZICH et al., 2003).As nanopartículas poliméricas podem ser preparadas a partir

de uma variedade de materiais (proteínas, polissacarídeos e polímeros sintéticos). A seleção do polímero engloba alguns fatores: tamanho desejado das partículas, propriedades do fármaco, como por exemplo, (solubilidade em água e estabilidade), característica da superfície, grau de biodegradabilidade, e a biocompatibilidade. Existem vários métodos utilizados para preparação das nanopartículas, dentre eles são descritos na literatura dispersão de polímeros pré-formados, polimerização de monômeros, e gelificação iônica de polímeros hidrofílica (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Sendo as mais utilizadas, a dispersão de polímeros pré-formados, que engloba várias técnicas a evaporação por solventes e emulsificação simples (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Nessa técnica o polímero e o fármaco hidrofóbico são dissolvidos em um solvente orgânico, por exemplo, diclorometano, clorofórmio, ou acetato de etila. Na mistura o polímero e o fármaco são inseridos em uma solução aquosa contendo agente, emulsificante formando uma emulsão de óleo ou é levada à evaporação sob pressão reduzida para retirada do solvente orgânico (MOHANRAJ; CHEN, 2006).

Figura 2: Representação esquemática da técnica de emulsificação-evaporação



Fonte: Adaptado por PINTO et al., 2006

Além da técnica polímero pré-formados, há também a técnica por emulsão aniônica. Este método consiste na utilização de um monômero solúvel em água acidificada que é capaz de se polimerizar com polissacarídeos. Para isto, os materiais permanecem sob agitação vigorosa por 3 horas até completar polimerização e formação das nanopartículas (LIRA, et al., 2011).

5.6 Nanopartículas de Cerâmica

Devido sua evolução, as NPS de cerâmica ganharam um grande destaque nas mudanças ambientais, pelo fato de serem altamente resistentes. NPS de cerâmica são compostas por elementos inorgânicos, sílica e alumina. Por outro lado, o seu núcleo não se restringe apenas a esses materiais, mas a outros metais e óxidos metálicos (ARMATAS; KANATZIDIS, 2006; ZOU et al., 2005). Embora os sulfatos metálicos sejam utilizados para produção de nanosistemas, no tamanho, forma e porosidade variada, nanopartículas apresentam evasão nos sistemas retículo-endotelial que modificam o tamanho, estrutura da superfície. Na sua porosidade a proteção física contra a degradação e desgranulação. Diante disso, a cerâmica composta por fosfato de cálcio, Sílica, alumina, zircônio, óxidos de ferro, carbonatos e dióxido de titânio apresentou interesse em diversas aplicações médicas pelas relações positivas no tecido humano (WHITTERS et al., 1999).

5.7 Nanopartículas Metálicas

As NPs metálicas compreendem a natureza eletrônica, ópticas e magnéticas dos metais(ouro e prata), e sua possível utilidade em agentes antimicrobianos com uso terapêutico aplicado a nonomedicina(DUCAN; GASPAR, 2011).O ouro (Au-NPs) emergiu como um dos candidatos atraentes na entrega de moléculas de fármacos e na área de biomarcadores por atuarem como síntese na modificação da superfície com diferentes polímeros e ligantes. Estas NPS de Au funcionam á base de fototérmicos com eficiente aplicação terapêutica, a exemplo o câncer (PENG et al., 2008). Uma vantagem documentada para a mesma é por possuir, inércia, não conter toxicidade, maior estabilidade, facilidade na preparação, e possíveis probabilidades de bioconjugação e biomodificação com tiol dissulfureto e grupos funcionais de amina (JAIN; SAYED,2007).A utilização de nanopartículas de prata (NPs Ag) se destaca por apresentar propriedades de boa condutividade, alto efeito catalítico, elevada área superficial, e uma excelente atividade antimicrobiana, podem ser aplicadas na redução de infecção, prevenção de colônia bacteriana, cateteres e materiais odontológicos (GUZMÁN; DILLE; GODET, 2009).

5.8Classificação das Nanopartículas

5.8.1 Nanopartículas Convencionais

As nanopartículas convencionais são constituídas por um núcleo oleoso composto por triglicerídeos de cadeia média ou longa (HUYNH et al., 2009; DELMAS et al.,2011).*In vivo*

as nanopartículas convencionais são mais facilmente reconhecidas pelo sistema imunológico, sendo removidas mais facilmente da corrente circulatória (TORCHILIN, 2000).

5.8.2 Nanopartículas Furtivas

Com o objetivo aumentar o tempo de circulação das nanopartículas convencionais foram desenvolvidas as furtivas. As nanopartículas furtivas são obtidos por diferentes métodos, que inclui basicamente o revestimento da superfície de componentes hidrofílicos naturais como o monossialogangliosídeo GM1 e fosfatidilinositol, ou de polímeros hidrofílicos sintéticos, especificamente os polietilenoglicóis (PEG) (SAGRISTÁ et al., 2000; TORCHILIN, 2005). Uma das estratégias fundamentais para obtenção para longa circulação plasmática é modulação da superfície desses vetores através de macromoléculas hidrofílicas, que são eficazes fisicamente aos sistemas, assim, produzindo aqueles conhecidos como estabilizados estéricamente ou / sistemas furtivos (OWENS; PEPPAS, 2006; ROMBERG; KENNINK; STORM, 2008). A camada hidrofílica superficial destes polímeros aumenta o tempo de circulação das nanopartículas prevenindo o reconhecimento e consequentemente a associação com as opsoninas no plasma, desse modo, inibindo o processo de reconhecimento molecular e a captura pelas células do sistema fagocitário mononuclear, preferencialmente as células de Kupffer no fígado (NEEDHAM et al., 1992). Uma forma de modificar a superfície das nanopartículas além da utilização do PEG é o uso dos polissacarídeos, os quais vem sendo estudados ao longo dos anos nas indústrias farmacêuticas perante a sua eventual utilidades e aplicações nos sistemas de entrega de fármacos (LEMARCHAND et al., 2004).

5.8.3 Nanopartículas Sítio-Específicas

Na tentativa de aumentar a especificidade de ação das nanopartículas das células alvo e elevar a quantidade de fármacos liberadas nestas células, a pesquisa neste campo foi focada na elaboração de nanopartículas direcionadas ou/sítio-específicos. Por isto, estes últimos utilizam ligantes acoplados em sua superfície, que conferem seletividade para ofertar o fármaco encapsulado no sítio de ação almejado (SIHORKAR; VYAS, 2001; SAPRA; ALLEN, 2003). A modificação da superfície das nanopartículas a partir da adição de ligantes pode ser feita inserindo moléculas como peptídeos (VALETTI et al., 2014), anticorpo (KOUCHAKZADEH et al., 2013), polissacarídeos tal como a fucana (LEMARCHAND et al., 2004).

5.9 Polissacarídeos Sulfatados

Os polissacarídeos sulfatados são polímeros formados por unidades repetidas de açúcares e carregados negativamente devido à presença de grupo sulfato (STRYER, 2007). Em se tratando de polissacarídeos, a fucana é um polissacarídeo sulfato extraído de algas marrons (LI et al., 2008; BILAN et al., 2003). Sua estrutura e composição variam de diferentes espécies de algas marinhas, que normalmente seu composto consiste em L-fucose e sulfato, ligados a pequenas quantidades de D-galactose, D-manose, D-xilose e ácido urônico (USOU; BILIAN, 2003). Atualmente por este polissacarídeo apresentar baixo custo e ser acessível torna sua utilização atrativa para o revestimento de nanocarreadores e obtenção de sistemas. Além disso, apresenta várias atividades biológicas como mostra a tabela 1, incluindo a capacidade de se ligar especificamente à bactéria *Helicobacter pylori* (LIN et al., 2011) fazendo com que a mesma não seja capaz de se aderir a mucosa gástrica, evitando assim os danos causados pela infecção. Ademais, é descrito na literatura a capacidade da fucana estimular a produção de muco (CHOI et al., 2010), fato este que proporcionaria uma proteção da mucosa gástrica.

Tabela 1-Principais atividades biológicas do polissacarídeo fucana.

Atividades biológicas	Referências
Inibição da ativação do sistema complemento	ZVYAGINTSEVA et al., 2000
Estimulação da produção de muco	CHOI et al., 2010
Ligação da bactéria <i>Helicobacter pylori</i>	LIN et al., 2009
Antioxidante	HUANG E LI et al., 2014 RAVEENDRAN et al., 2015 KUMAR et al., et al., 2015
Anticâncer	ROGERS et al., 2008 MORI et al., 2013
Anticoagulante	SILVA et al., 2012
Ant-angiogênicos	CUMASHI et al., 2007
Tratamentos de queimaduras dérmicas	SEZER et al., 2008

Fonte: AGUIAR, 2017

H. Pylori é uma bactéria que contagia cerca de 50% da população mundial sendo responsável pelas doenças gastroduodenais, envolvendo a úlcera gástrica e o câncer gástrico (KUSTERS et al., 2006). Notavelmente, um dos papéis desenvolvidos pela infecção da *Helicobacter pylori* é a úlcera, bem com o adenocarcinoma. Assim, a supressão dessa bactéria poderia reduzir a expansão do risco dessa doença (PASTORIZA et al., 2014; MANSOUR et

al., 2009; ROY,2010; SAVLA;MINKO,2013). Neste contexto, levando-se em consideração a importância do desenvolvimento de sistemas sítio-específicos com objetivo de otimizar a ação farmacológica de diversos fármacos, e a utilização de produtos naturais, propomos neste trabalho a utilização da fucana como molécula de revestimento das nanopartículas para obtenção de sistemas sítio-específicos. Assim, neste trabalho preparamos e caracterizamos nanopartículas de PIBCA revestidas com fucana e avaliamos sua estabilidade frente a meio de cultura e a citotoxicidade em macrófagos J774.

6 METODOLOGIA

6.1 Preparação das nanopartículas de PIBCA revestidas com polissacarídeos

As nanopartículas foram preparadas utilizando como polissacarídeos a fucana em diferentes proporções (0,25 e 100%). Pelo método de polimerização aniônica (AEP) Lira e colaboradores (2011). O polissacarídeo foi solubilizado em água (5mL) e em seguida o pH ajustado para 2.5 com HCl (1N). Após ajuste, o monômero IBCA (isobutilcianoacrilato) foi adicionado e o material permaneceu sob agitação vigorosa e constante por 3 horas. Com o objetivo de eliminar todos os reagentes que não reagiram durante a polimerização, as nanopartículas obtidas foram purificadas por diálise (Spectrapor[®] membrana 100,000 g/mol cutoff, Biovalley, MarnelaVallee, France) duas vezes com 1L de água destilada por meia hora e em seguida overnight.

6.2 Caracterização físico-química das nanopartículas de PIBCA revestidas com polissacarídeos

As nanopartículas foram caracterizadas segundo tamanho médio das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta (carga de superfície). O tamanho médio e o índice de polidispersão foram analisado após diluição das amostras (n=3) em água destilada, a 25°C pela dispersão de luz utilizando o Nanosizer[®] N4 PLUS (Malvern), no qual o ângulo de dispersão foi fixado em 90°. Por outro lado, a carga da superfície foi verificada utilizando Zetasizer 4 (Malvern Instruments Ltd), após diluição adequada das amostras (n=3) em KCl (1mM). As duas análises seguiram parâmetros descritos por Lira et al 2011.

6.3 Avaliações da estabilidade das nanopartículas de PIBCA revestidas com polissacarídeo ao meio de cultura e avaliação da citotoxicidade

Antes de avaliar a citotoxicidade das nanopartículas de PIBCA revestidas com fucana, as mesmas foram inseridas em meio de cultura para avaliar se permaneceriam estáveis durante 48 horas, tempo total utilizado para o ensaio de citotoxicidade. Assim, as formulações foram mantidas em contato com meio de cultura (RPMI) e após 12, 24 e 48h foram observados os aspectos macroscópicos como formação de precipitado, presença de grumos e/ou separação da faixa das nanopartículas. Após avaliação da estabilidade frente ao meio de cultura, a citotoxicidade das nanopartículas foi avaliada pelo ensaio da redução do sal de tetrazólio MTT (DENIZOT; LANG, 1986) através do funcionamento da enzima mitocondrial succinato desidrogenase, frente aos macrófagos J774. O resultado expressa a redução do

corante MTT em células tratadas relacionado ao controle(células não tratadas) *versus* a concentração da amostra em teste, obtendo-se, por interpolação, o valor de IC_{50} para todas as amostras.

7 RESULTADOS

Nanopartículas foram preparadas pelo método de polimerização por emulsão Aniônica (AEP) utilizando monômero isobutilcianoacrilato (IBCA) e a fucana em diferentes proporções (0, 25 e 100%). Na caracterização físico-química, aspecto macroscópico, o tamanho de partícula e índice de polidispersão (PDI), potencial zeta foram analisados. As nanopartículas inicialmente obtidas pela caracterização observando-se a presença de grumos ou precipitados. Em seguida, as nanopartículas que apresentaram aspecto homogêneo foram caracterizadas segundo o tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI) e carga de superfície (potencial zeta). Os resultados da caracterização podem ser observados na Tabela 1. Em relação ao tamanho foram verificados valores entre 254 e 495nm dependendo da quantidade de fucana presente. Valores baixos do índice de polidispersão foram obtidos. Em relação ao potencial zeta foi observado que todas as formulações apresentaram carga de superfície negativa. Além disso, houve uma diminuição dos valores quando ocorreu aumento no percentual da fucana, atingindo o máximo de -55,3 para aquelas nanopartículas que continham 100% do polissacarídeo.

Tabela 2- Características físico-químicas de nanopartículas de PIBCA revestidas com fucana em diferentes concentrações (0, 25 e 100%).

NP-PIBCA	Tamanho (nm)	PDI $\pm$ DP	Potencial Zeta
AEP-Fuc0	254,4 $\pm$ 5,2	0,26 $\pm$ 0,05	- 5,5 $\pm$ 0,3
AEP-Fu25	351,2 $\pm$ 4,7	0,104 $\pm$ 0,02	- 33,2 $\pm$ 0,4
AEP-Fuc100	495,4 $\pm$ 17,6	0,11 $\pm$ 0,09	- 55,3 $\pm$ 1,4

* AEP-Fuc0 representa 0% de fucana e 100% de dextrana; AEPfuc25 representa 75% de dextrana e 25% de fucana; AEP-Fuc100 representa 0% de dextrana e 100% de fucana.

Após caracterização, a estabilidade das nanopartículas foi avaliada frente ao meio de cultura (RPMI) que seria utilizado na avaliação da citotoxicidade. Não foi observada a formação de precipitados ou agregados de nenhuma das nanopartículas após contato com o meio de cultura. Este fato mostra que as nanopartículas permaneceram estáveis após contato com meio de cultura utilizado. Para teste de citotoxicidade os macrófagos foram transferidas para placa de 96 poços (1 x 10⁵ células/poço). Em seguida as nanopartículas foram adicionadas e incubadas por 48 horas. Após incubação 20 μ L do MTT (5mg/mL) foi

adicionado e após 2 horas os cristais de Formazan formados pelas células vivas foram dissolvidos em DMSO e quantificados em leitor de Elisa. A figura 2 indica as IC_{50} obtidas para as formulações contendo 25 e 100% de fucana (AEP-Fuc-25 e AEPFuc-100) e sem fucana (AEP-/Fuc-0).

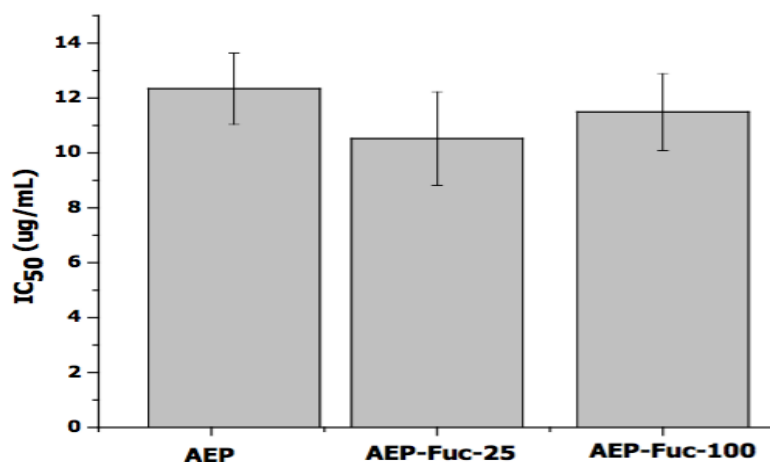


Figura 3- Citotoxicidade de nanopartículas revestidas com fucana expressa em IC_{50} (ug/mL) em macrófagos J774. AEP-Fuc0, AEP-Fuc25 e AEP-Fuc100. AEP-Fuc0 representa 0% de fucana e 100% de dextrana; AEPfuc25 representa 75% de dextrana e 25% de fucana; AEP-Fuc100 representa 0% de dextrana e 100% de fucana.

8 DISCUSSÃO

Nanopartículas desenvolvidas apresentaram característica físico-química dentro do esperado. Em relação ao tamanho observou-se que o aumento da concentração da fucana influenciava diretamente o tamanho das partículas passando de $254.4 \pm 5.2\text{nm}$ para $495.4 \pm 17.6\text{nm}$ nas formulações sem fucana e com 100% respectivamente. O índice de polidispersão (PDI) apresentou valores baixos o que indica homogeneidade no tamanho das partículas. Segundo a literatura, valores abaixo de 1.0 para o PDI indicam formulações homogêneas. O potencial zeta houve uma diminuição com o aumento do percentual do polissacarídeo na formulação, ou seja, tornou a superfície mais negativa. Como a fucana é um polissacarídeo que apresenta carga negativa, devido aos grupamentos sulfatos presentes na sua estrutura, uma vez que esse resultado era esperado. Os resultados estão de acordo com dados anteriores descritos por Lira et al, (2011), os quais verificaram que as formulações de nanopartículas foram estáveis com todos os percentuais de fucana. O tamanho das nanopartículas preparadas pela AEP foi aumentado de $193 \pm 4\text{ nm}$ a $399 \pm 0,7\text{ nm}$, quando a concentração de fucana aumentou de 25% para 100% respectivamente. Apesar das mudanças significativas no tamanho, o índice de polidispersão apresentou valores baixos o que indica homogeneidade no tamanho das partículas. Do mesmo modo, a carga da superfície também foi influenciada pela quantidade de fucana, ocasionando diminuição. LIRA et al., (2011) também analisou outro método de polimerização, o emulsão por Redox (RREP), e da mesma forma observou aumento do tamanho da partícula e diminuição da carga da superfície com o aumento da concentração da fucana. As formulações permaneceram estáveis em meio de cultura (RPMI) não apresentando formação de agregados ou precipitação. Na avaliação da citotoxicidade, observou-se que as nanopartículas obtidas não foram tóxicas para as células, uma vez que os valores de IC_{50} foram maiores que $10\mu\text{mL}$ e não houve diferença estatística entre as formulações, sugerindo que não foi citotóxica na faixa de estabilidade do meio de cultura.

9 CONCLUSÃO

As nanopartículas revestidas com diferentes percentuais de fucana foram preparadas apresentando características físico-químicas adequadas para o revestimento da superfície. Observou-se que as nanopartículas apresentam tamanho e carga da superfície que variaram de acordo com o percentual de fucana inserido na formulação, tornando-se maiores e mais negativas, a medida que o percentual de fucana aumentava sugerindo que a mesma encontrava-se na superfície das nanopartículas. As formulações permaneceram estáveis no meio de cultura e apresentaram valores de IC_{50} não tóxicos para os macrófagos J774.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, T. M.; CULLIS, Pieter R. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 65, n. 1, p.36-48, jan. 2013.
- ARAÚJO, et al. Preparation of polymeric Nanoparticles By Polymerization of Monomers. **Colloid Surf: B Biointerfaces**, Amsterdam, v. 72, p.48, 2009.
- ARMATAS,G.S.; KANATZIDIS,M.G.Mesostructuredgermanuim with cubic pore symmitry. **Nature**, London, v. 441, n.7097, p.1125-5, jun. 2006.
- BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B.; MAGALHÃES, N. S.S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 2, p.167-179, jun. 2007.
- BILAN, et al., Preliminary investigation of a highly sulfated galactofucan fraction isolated from the brown alga *Sargassum polycystum*. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 377, p.48-57, ago. 2013.
- CHAUVIERRE, C. et al. Novels of poly (isobutyl cyanoacrylate) nanoparticles decorated with polysaccharides. **Pharmaceutical Research**, Stuttgart, v. 20, n. 11, p. 1786-1787, Nov. 2003.
- CHOI, J. et al. Effect of fucoidan on aspirin-induced stomach ulceration in rats. **Chemico-biological Interactions**, Amsterdam, v. 183, n. 1, p.249-254, jan. 2010.
- CUMASHI, A. et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. **Glycobiology**, Oxford, v. 17, n. 5, p.541-552, 12 fev. 2007.
- DELMAS, T. et al., Preparation and characterization of highly stable lipid nanoparticles with amorphous core of tuneable viscosity. **Journal Of Colloid And Interface Science**, Orlando, v. 360, n. 2, p.471-481, ago. 2011.
- DREADEN,E.C. et al., A the golden age: gold nanoparticles for biomedicine. **Chemical Society Reviews**, London, v.41, n.7, p.2740, 2012.
- DUNCAN, R.; GASPAR, R. Nanomedicine(s) under the microscope. **Mol. Pharm**, Washington, v. 8,p. 2101–41, 2011.
- DENIZOT,L.Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications tothe tetrazoliumdye procedure giving improved sensitivity and reliability. **J. Immunol methods**, Amsterdam, v.22, n.2, p.271-7, may.1986.
- EDWARDS, K. A.; BAEUMNER, A. J. Liposomes in analyses.**Talanta**, London, v. 68, n.5, p.1432-1441, 2006.
- GRAF, R. et al., Nanoesferas poliméricas de grande circulação biodegradáveis. **Ciência**, V. 263,p. 1600-1603, mar,1994.

GUZMÁN, M.G.; DILLE, J.; GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. **International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering**, v.2, p.104-111, 2009.

FENG et al. Conjugated polymer nanoparticles for drug delivery and imaging. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, Washington, v.2, p. 2429-2435, agost.2010.

HUANG, Y. et al. Preparation and Characterization of Antioxidant Nanoparticles Composed of Chitosan and Fucoidan for Antibiotics Delivery. **Marine Drugs**, Basel, v. 12, n. 8, p.4379-4398, jul. 2014.

HUYNH, N.T. et al. Lipid nanocapsules: A new platform for nanomedicine. **International Journal Of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 379, n. 2, p.201-209, set. 2009.

JAIN, P. K.; EL-SAYED, I. H.; EL-SAYED, M. A. Au nanoparticles target cancer. **Nano Today**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.18-29, fev. 2007.

KHEMTONG, C., KESSINGER, C.W.; GAO, J. Polymeric Nanomedicine for Cancer MR Imaging and Drug Delivery. **Chemical communications**, Cambridge, v. 28, n.24, 2009.

KOUCHAKZADEH, H. et al. Optimization of an anti-HER2 monoclonal antibody targeted delivery system using PEGylated human serum albumin nanoparticles. **International Journal Of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 447, n. 1-2, p.62-69, abr. 2013.

KOUCHAKZADEH, H. et al. Optimization of an anti-HER2 monoclonal antibody target delivery system using PEGylated human serum albumin nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v.447, p. 62-69, 2013.

KREUTER, J. Nanoparticles-a historical perspective. **International Journal Of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 331, n. 1, p.1-10, fev. 2007.

KREUTER, J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p.65-81, mar. 2001.

KUMAR, S. P. et al. Antioxidants studies of chitosan nanoparticles containing naringenin an their cytotoxicity effects in lung cancer cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 78, p.87-95, 2015.

KUSTERS, J.G.; VAN, V. A.; KUIPERS E.J. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection, **Rev Clin Microbiol**, Washington, v.19, n.3, p. 449-90, 2006.

LAINÉ, A. L. et al. Conventional versus stealth lipid nanoparticles: Formulation and in vivo fate prediction through FRET monitoring. **Journal Of Controlled Release**, Amsterdam, v. 188, p.1-8, ago. 2014.

LEE, J. H.; YEO, Y. Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. **Chemical Engineering Science**, London, v. 125, p.75-84, mar. 2015.

LEMARCHAND, C.; GREF, R.; COUVREUR, P. Polysaccharide-decorated nanoparticles. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 58, n. 2, p.327-341, set. 2004.

LIRA, M.C.B. et al. Cytotoxicity and cellular uptake of newly synthesized fucoidan-coated nanoparticles. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 79, n. 1, p.162-170, set. 2011.

LIN, et al., Development of pH-responsive chitosan/heparin nanoparticles for stomach-specific anti-Helicobacter pylori therapy. **Biomaterials**, Guilford-England, v. 30, n. 19, p.3332-3342, jul. 2009

MANSOUR, H.M., RHEE, Y.S., WU, X. Nanomedicine in pulmonary delivery. **Int. J.Nanomedicine**, Auckland, v.4, p.299-319, dez.2009.

MOHANRAJ, V.J.; CHEN, Y. Nanoparticles - A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, Benin City-Nigeria, v.5, p. 561-573, 2006.

MORA-HUERTAS, C.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 385, n. 1-2, p.113-142, jan. 2010.

MORI, Y. et al. Antiviral activity of silver nanoparticle/ chitosan composites against H1N1influenza A vírus. **Nanoscale Research Litters**, New York, v.8, n.93, p.1-6, 2013.

MUNOZ, F.; ALICI, G.; LI, W. A review of drug delivery systems for capsule endoscopy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 71, p.77-85, maio 2014.

NASONGKLA et al. Multifunctional polymeric micelles as cancer-targeted, MRI-ultrasensitive drug delivery systems, **Nano letters**, New York, v.6, p.2427-2430, out. 2006.

NEEDHAM,D.etal.;Repulsiveinteractionsandmechanicalstabilityofpolymergraftedlipidmembranes. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v. 1108, p. 40-48, 1992.

NEW, R.R.C. (Ed.).**Liposomes: A practical approach**. Oxford: Oxford University Press, 1990. p. 432.

NICOLAS, J. ; COUVREUR, P. Synthesis of poly(alkyl cyanoacrylate)-based colloidal nanomedicines. **Rev. Nanomed. Nanobiotechnol**, Hoboken, v.1, p.111 ,2009.

OWENSIII, D.; PEPPAS, N. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. **International Journal Of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 307, n. 1, p.93-102, 3 jan. 2006.

PUISIEUX, F. et al. (Eds.). **Liposomes, new systems andnew trends in their applications**. Paris: Éditions de Santé,1995. p.266.

PENG, et al., Interleukin 17-Producing $\gamma\delta$ T Cells Increased in Patients with Active Pulmonary Tuberculosis. **Cellular & Molecular Immunology**, Pequín, v. 5, n. 3, p.203-208, jun. 2008. Springer Nature.

QIN, Y. et al., Near-infrared light remote-controlled intracellular anti-cancer drug delivery using thermo/pH sensitive nanovehicle. **Acta Biomaterialia**, Oxford, v. 17, p.201-209, abr. 2015.

RABASCO, A. M. Novas formas de administración de medicamentos. In: VILA JATO, Jose Luis (Ed.). **Tecnologíafarmacéutica: formas farmacêuticas**. Madri: Síntesis, v.2, p. 379-445, 1997.

- RANGEL et al. Micellarsolubilization of drugs. **J. Pharm. Pharm. Sci.** New York, v.41, n.2, p.147–65 abr/jun. 2005.
- ROGERS, J. V. et al. A Preliminary Assessment of Silver Nanoparticle Inhibition of Monkeypox Virus Plaque Formation. **Nanoscale Research Letters**, v. 3, n. 4, p.129-133, abr. 2008.
- ROMBERG, B.; HENNINK, W.E G. STORM. Sheddablecoatings for long-circulating Nanoparticles, **Pharmaceutical Research**, Sttutgard, v. 25, n.1, p.55-71, jan. 2008.
- ROY, I.; VIJ, N. Nanodelivery in airway diseases: Challenges and therapeutic applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, New York, v. 6, n. 2, p.237-244, abr. 2010.
- SAGRISTÁ, M.L.;MORA,M.; MADARIAGA, M. A. Surface modified liposomes by coating with charged hydrophilic molecules. **Cell. Mol. Biol. Lett.**, Washington, v. 5, p. 19-33, 2000.
- SAKATA, S. et al., Programmingcontrolofintelligentdrug releases in response to single andbinaryenvironmentalstimulationsignalsusing sensor and electro responsive hydrogel. **Radiat. Phys. Chem.**, Amsterdam, v.76, p.733-737, 2007
- SAPRA, P.; ALLEN, T.M. Ligand-targeted liposomal anticancer drugs. **Progress In Lipid Research**, Oxford, v. 42, n. 5, p.439-462, set. 2003.
- SAVLA, R.; MINKO, T. Nanotechnology approaches for inhalation treatment of fibrosis. **Journal Of Drug Targeting**, London, v. 21, n. 10, p.914-925, ago. 2013.
- SCHAFFAZICK,et al., Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.726-737, out. 2003.
- SEZER, A.D. et al. The use of fucosphere in the treatment of dermal burns in rabbits. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 69, n. 1, p.189-198, maio 2008.
- SHIN, W.K. et al. Cross-linked Composite Gel Polymer Electrolyte using Mesoporous Methacrylate-Functionalized SiO₂ Nanoparticles for Lithium-Ion Polymer Batteries. **Scientific Reports**, London, v.6 , p.263326, 2016.
- SILVA, T. H. et al. Marine algae sulfated polysaccharides for tissue engineering and drug delivery approaches. **Biomatter**, Austin, v. 2, n. 4, p.278-289, out. 2012.
- SINGH, M.; O'HAGAN, D. T. Recent advances in veterinary vaccine adjuvants. **International Journal For Parasitology**, Oxford, v. 33, n. 5-6, p.469-478, maio 2003.
- STRYER,L. **Bioquímica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- TORCHILIN, V.P. Drugtargeting. **Eur. J. Pharm. Sci.**,Amsterdam, p.s81-s91, 2000.
- TORCHILIN, V.P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carrier. **Nature Rev. Drug Disc.**, London, v. 4, p. 145-160, 2005

TRAVAN, A. et al. Non- cytotoxic Silver Nanoparticle Polysaccharide. **Biomacromolecules**, v.10, n.6, p.1429- 1435, abril 2009.

USOV,A.I.,BILAN, M.I. Fucoidans – Sulfated polysaccharides of brown algae. **Russian Chemical Reviews**, v.78, p.785–799, 2009.

VALETTI, S. et al., Peptide-functionalized nanoparticles for selective targeting of pancreatic tumor. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 192, p.29-39, out. 2014.

VEMURI, S.; RHODES, C.T. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 70, n. 2, p.95-111, jul. 1995.

WEBSTER, D. M.; SUNDARAM, P.; BYRNE, M. E. Injectable nanomaterials for drug delivery: Carriers, targeting moieties, and therapeutics. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p.1-20, maio 2013.

WHITTERS, C.J. et al. Dental materials: 1997: literature review. **Journal Of Dentistry**, v.27, n.6, p. 401-435, ago, 1999.

YANG, L. et al. Dual responsive copolymer micelles for drug controlled release. **Journal Of Colloid And Interface Science**, v. 350, n. 1, p.22-29, out. 2010.

ZAFAR, N.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Cyclodextrin containing biodegradable particles: From preparation to drug delivery applications. **International Journal Of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 461, n. 1-2, p.351-366, jan. 2014.

ZOU,X. et al., A mesoporous germanium oxide with crystalline pore walls and its chiral derivative . **Nature**, London, v.437, n.7059, p. 716-9, sep. 2005.

ZVYAGINTSEVA, T. N. et al. Inhibition of complement activation by water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, Oxford, v. 126, n. 3, p.209-215, jul. 2000.