



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

THAÍSA CARDOSO DE OLIVEIRA

APLICAÇÃO DE BIOPOLIMERO MODIFICADO DE GOMA DO ANGICO EM
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO: UMA ABORDAGEM UTILIZANDO
MICROAGULHAS

RECIFE

2022

THAÍSA CARDOSO DE OLIVEIRA

**APLICAÇÃO DE BIOPOLIMERO MODIFICADO DE GOMA DO ANGICO EM
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO: UMA ABORDAGEM UTILIZANDO
MICROAGULHAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

Co-orientadora: Profa. Dra. Luíse Lopes Chaves

RECIFE

2022

THAÍSA CARDOSO DE OLIVEIRA

**APLICAÇÃO DE BIOPOLIMERO MODIFICADO DE GOMA DO ANGICO EM
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO: UMA ABORDAGEM UTILIZANDO
MICROAGULHAS**

Exame de tese de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Aprovada em 3 de junho de 2022.

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

Presidente

Durcilene Alves da Silva

Avaliadora externa - UFDPAR

Edson Cavalcante Silva Filho

Avaliador externo - UFPI

Leila Bastos Leal

Avaliadora interna - UFPE

Sofia Costa Lima

Avaliadora externa - UPorto

*Dedico este trabalho aos meus queridos pais Marina Cardoso
Vieira Rocha e Raimundo Neto Rocha de Oliveira.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador primordial, por ser amor em todas as suas esferas e por me proporcionar experiências extraordinárias que me fazem reconhecer o quanto sou amor também.

Aos meus pais, parentes e ancestrais, por me fornecerem todo o suporte possível.

Aos meus irmãos, Thayanne e Tácio e meus sobrinhos (Davi, Ana Júlia, Théo e Pedro), por me ensinarem sobre o amor mais puro.

Ao meu orientador, José Lamartine, por ser um grande mentor e me fornecer todo o suporte para que eu pudesse me auto reconhecer como cientista,

A minha co-orientadora Luíse por todo apoio, cuidado e conhecimento compartilhado ao longo desses anos.

À professora Salete Reis, professora Sofia Lima e ao laboratório MB2-UPorto, por todo cuidado e aprendizados.

À professora Mônica Felts de La Roca Soares, por ser alicerce durante o desenvolvimento deste trabalho e minha formação como doutoranda.

Ao laboratório NCQMC, por toda base fornecida durante todos esses anos de experiência.

Ao laboratório BIOTEC e professora Durcilene Silva, pelo fornecimento da goma do angico, auxílio no tratamento de amostras por microscopia de força atômica e por todo auxílio durante o este doutoramento.

Aos laboratórios Central Analítica do DQF-UFPE, CETENE, LIMAV-UFPI e CEMUP-UP, pelo auxílio técnico para caracterização das amostras.

À minhas amigas Pauline, Alessandra, Carla, Ana Cristina, Dayane e meu amigo Izak por todas as conversas e momentos de alegria ao longo dessa jornada.

Por toda a assistência fornecida do PPGCF-UFPE, DCFAR-UFPE, em especial Nerelim Trajano e Rilvan.

RESUMO

Sistemas baseados em nanopartículas são uma forma promissora para o desenvolvimento de sistemas de liberação aplicáveis ao tratamento do HIV. Dentre os diversos materiais efetivos para a produção de nanopartículas encontra-se em expansão o uso de polissacarídeos que podem ser modificados e utilizados para aplicação em sistemas de liberação de fármacos. A goma do angico (AG), um polissacarídeo proveniente da exsudação da espécie *Anadenanthera colubrina var. cebil* é um exemplo desse tipo. Este trabalho teve como objetivo desenvolver a modificação de ftalação de AG e avaliar o potencial de aplicação desse material do desenvolvimento de nanopartículas poliméricas. Foi possível verificar o processo de ftalação e a goma do angico ftalada (PAG) foi utilizada para produção de nanopartículas. Para entender a influência de vários fatores, o planejamento de experimentos *Plackett-Burman* foi usado na produção de nanopartículas, as quais foram otimizadas usando parâmetros de desejabilidade. A formulação de nanopartículas de PAG carregadas com o fármaco nevirapina (NVP) apresentou parâmetros de tamanho (202,1 nm) índice de polidispersão (PDI) (0,23), potencial zeta (-17,1 mV) e eficiência de encapsulamento (69,8%) dentro dos valores desejados, e promoveu liberação modificada do fármaco. Em um estudo seguinte, a formulação de nanopartículas em suspensão (NPns) ou liofilizadas (NPfd) foi incorporada em hidrogel de quitosana (CH) e polivinilpirrolidona (PVP) para a produção de microagulhas (MN-NPns e MN-NPfd). As microagulhas apresentaram tamanho aproximado de 750 μm e base piramidal. Análises de microscopia eletrônica de varredura evidenciaram agulhas retas e pontiagudas. A formulação selecionada foi avaliada quanto a propriedades mecânicas, características físico-químicas, capacidade de permeação do fármaco, além de do estudo de viabilidade celular. Foi observado que tanto as microagulhas obtidas proporcionaram significativa permeação do fármaco durante 72 h de ensaio. Além disso, os ensaios histológicos em pele de porco evidenciaram que a microagulha foi capaz de promover microrupturas. Portanto, o este trabalho evidencia que a PAG se mostrou como um biopolímero promissor e versátil para sistemas de liberação de fármacos, podendo ser aplicado inclusive para sistemas de liberação transdérmicos.

Palavras-chave: nanopartículas; polissacarídeos; sistemas de liberação de fármacos por nanopartículas; antirretroviral; adesivo transdérmico.

ABSTRACT

Nanoparticles are a promising way to develop delivery systems applicable to the treatment of HIV. Among the various effective materials to produce nanoparticles, the use of polysaccharides that can be modified and used for application in drug delivery systems is expanding. Angico gum (AG), a polysaccharide from the exudation of the species *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* is an example of this type. This work aimed to develop the phthalation modification of AG and evaluate the potential application of this material in the development of polymeric nanoparticles. The phthalation reaction was confirmed, and the phthalate angico gum (PAG) was used to produce nanoparticles. We used Plackett-Burman design experiments to understand the influence of various factors in nanoparticle production. The formulation of PAG nanoparticles loaded with NVP presented parameters of size (202.1 nm), polydispersity index (PDI) (0.23), zeta potential (-17.1 mV), and encapsulation efficiency (69.8%) within the desired values, and promoted modified drug release. In a subsequent study, the formulation of suspended (NPns) or lyophilized (NPfd) nanoparticles was incorporated into a hydrogel containing a combination of chitosan (CH) and polyvinylpyrrolidone (PVP) to produce microneedles. The microneedles had a pyramidal base and size of about 750 μm . Scanning electron microscopy analyzes showed straight and pointed needles. The selected formulation was evaluated in terms of mechanical properties, physicochemical characteristics, drug permeation capacity, and the cell viability study. It was observed that both microneedles obtained provided significant drug permeation during 72 h of the assay. In addition, histological assays in pig skin showed that the microneedle was able to promote microtears. Therefore, this work shows that PAG proved to be a promising and versatile biopolymer for drug delivery systems and can be applied even for transdermal delivery systems.

Keywords: nanoparticles; polysaccharides; nanoparticle drug delivery system; antiretroviral agent; transdermal patch.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Monossacarídeos que compõem polissacarídeos.....	17
Figura 2 - Detalhes sobre a estrutura da pele e seus constituintes.....	22
Figura 3 - Tipos de microagulhas para sistemas de aplicação transdérmica: sólida, revestida, oca, dissolúvel e formadora de hidrogel.....	25

ARTIGO 1

Figura 1 - Progressão temporal de publicações contendo os termos “ <i>Anadenanthera</i> ” or “angico” (A), imagem do exsudato angico (B) e goma do angico após o processo de purificação (C).....	34
---	----

ARTIGO 2

Figura 1 - Esquema simplificado de modificação da PAG.....	48
Figura 2 - Espectros de ressonância magnética nuclear (¹ H RMN) de AG e PAG.....	49
Figura 3 - Espectros de FTIR de goma angico (AG) e goma angico ftalada (PAG).....	50
Figura 4 - Análises de DRX (A) e curvas termogravimétricas (B) de anidrido ftálico (PA), goma do angico (AG) e goma do angico ftalada (PAG).....	52
Figura 5 - Gráficos de Pareto mostrando a significância das variáveis (A) tamanho de partícula, (B) PDI, (C) potencial Zeta, (D) eficiência de encapsulação e (D) <i>drug loading</i>	55
Figura 6 - Parâmetros da formulação otimizada como tamanho, PDI e potencial zeta foram monitorados por 75 dias.....	58
Figura 7 - Microscopia de força atômica (AFM) de: PAG-NP-vazio, imagem 3D (A) e imagem 2D (B); NVP-PAG-NP, imagem 3D (C) e imagem 2D (D).....	59
Figura 8 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> da formulação contendo nanopartículas produzida com goma do angico ftalada para o encapsulamento de nevirapina (NVP-PAG NPs) e do fármaco nevirapina (NVP).....	60

ARTIGO 3

Figura 1 - Caracterização da nanopartícula NVP-PAG NP liofilizada (A) microscopia eletrônica de varredura da nanopartícula liofilizada e (B) espectros de infravermelho de NVP-PAG NP, PAG-NP vazia, NVP e PAG.....	68
Figura 2 - Propriedades mecânicas das microagulhas.....	70
Figura 3 - Espectros das microagulhas MN-NPfd e MN-NPns e dos componentes que fazem parte de sua composição.....	71
Figura 4 - Análises de microscopia eletrônica de varredura de microagulha Ch-PVP 5:3 contendo apenas os polímeros – MN-vazio (A e B), microagulha contendo nanopartícula liofilizada – MN-NPfd (C e D) e microagulha contendo 4 mL de nansuspensão – MN-NPns (E e F)	72
Figura 5 - Ensaio de permeação das microagulhas MN-NPfd e MN-NPns, gráfico representativo da permeação cumulativa (%) (A) e concentração de NVP ($\mu\text{g/mL}$) (B).....	74
Figura 6 - Amostra de cortes histológicos da pele de porco após 1, 3 e 24h de ensaio. Para MN-NPfd: 1h (A), 3 h (B) e 24 h (C) e para MN-NPns: 1h (D), 3 h (E) e 24 h (F).....	75

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 - Modificação de Biopolímeros por ftalação.....	20
--	----

ARTIGO 1

Tabela 1 - Composição da goma do angico.....	35
--	----

Tabela 2 - Modificações químicas da goma do angico e suas características principais.....	37
---	----

Tabela 3 - Aplicações tecnológicas da goma do angico.....	39
---	----

ARTIGO 2

Tabela 1 - Análise elementar, massa molar e solubilidade de goma do angico (AG) goma do angico ftalada (PAG).....	50
---	----

Tabela 2 - Variáveis independentes por amostra e respostas observadas do planejamento de experimentos <i>Plackett-Burman</i> de nanopartículas de PAG contendo NVP.....	54
---	----

Tabela 3 - Valores preditos x valores observados de nanopartícula otimizada NVP-PAG NPs (nanopartículas produzidas com PAG contendo NVP)	58
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AG	Goma do Angico
ARV	Antiretroviral
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CETENE	Centro de Ciências Estratégicas do Nordeste
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ITRNNs	Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos
ITRNs	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos
PAG	Goma do angico ftalada
QbD	Qualidade pelo Design (Quality by design)
TARV	Terapia antiretroviral
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	POLISSACARÍDEOS.....	17
3.1.1	A modificação de polissacarídeos por ftalação	19
3.2	SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS BASEADOS EM POLISSACARÍDEOS.....	21
3.3	SISTEMAS DE LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICOS	22
3.3.1	Estrutura da pele	22
3.3.2	Fatores que influenciam na permeação	23
3.4	MICROAGULHAS.....	24
3.5	PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS PARA O DELINEAMENTO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO.....	26
3.6	HIV E TERAPIAS ANTIRRETROVIRAIS	27
3.6.1	Nanopartículas para a terapia antiretroviral	27
3.6.2	Sistemas de liberação transdérmicos como estratégia para a terapia antiretroviral	29
3.6.3	Nevirapina	29
4	MÉTODOS	31
5	RESULTADOS	32
5.1	ARTIGO 1: GOMA ANGICO: UM BIOMATÉRIAL PROMISSOR PARA FUTURAS APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS E BIOTECNOLÓGICAS	32
5.2	ARTIGO 2: SÍNTESE ECOLÓGICA DE GOMA DO ANGICO FTALADA PARA ENGENHARIA DE NANOPARTÍCULAS USANDO ABORDAGEN DE <i>QUALITY BY DESIGN</i> POR DESIGN (QBD).	42
5.3	ARTIGO 3: NANOPARTICULAS DE GOMA DO ANGICO FTALADA EM MICROAGULHAS PARA APLICAÇÃO EM SISTEMA DE LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICO	62
6	CONCLUSÃO FINAL DA TESE	77
	REFERÊNCIAS	78

APÊNDICE A – ARTIGO 4: O PAPEL DOS NANOCARREGADORES PARA APLICAÇÃO TRANSDÉRMICA DESTINADA À DISTRIBUIÇÃO DE MEDICAMENTOS LINFÁTICOS: OPORTUNIDADES E DESAFIOS.....	94
APÊNDICE B – LISTA DE PUBLICAÇÕES.....	112

1 INTRODUÇÃO

Cientistas em todo o planeta estão buscando estratégias sustentáveis para reduzir a dependência de materiais sintéticos. Na área farmacêutica não poderia ser diferente. Os biopolímeros tem ganhado muita força nos últimos anos como materiais sustentáveis para proporcionar uma entrega adequada fármacos. Entre as várias abordagens, o uso de sistemas de liberação nanoestruturados têm provado ser uma técnica eficiente e emergente com inúmeras vantagens e aplicações (ABO-ZEID et al., 2018).

Nanopartículas representam uma estratégia promissora para a indústria farmacêutica por possuírem uma série de vantagens, como aumento da biodisponibilidade, solubilidade e permeabilidade de fármacos. Uma formulação baseada em nanopartículas pode proporcionar proteção contra degradação, aumento do tempo de meia-vida e direcionar o fármaco para tecidos específicos, reduzindo, assim, uma série de efeitos colaterais que poderia ser proveniente do fármaco livre (VARGASON; ANSELMO; MITRAGOTRI, 2021).

Dentre os diversos materiais estudados para o desenvolvimento de nanopartículas, os biopolímeros constituem uma plataforma promissora devido a capacidade de promover liberação controlada de fármacos e aumentar a sua biodisponibilidade. Estudos científicos exemplificam o sucesso do emprego de polissacarídeos como quitosana, alginato, sulfato de dextrano e goma do cajueiro em sistemas de liberação, dentre outros (DIAS et al., 2016; JOYE; MCCLEMENTS, 2014; LIMA et al., 2018; PITOMBEIRA et al., 2015; VASCONCELOS SILVA et al., 2019; WANG et al., 2016b). Polissacarídeos naturais podem sofrer alteração de suas características físico-químicas devido a inserção de um determinado grupamento em sua estrutura polimérica por meio de modificações como: carboximetilação, aminação, acetilação, ftalação, entre outros (MALVIYA; SHARMA; DUBEY, 2016; PITOMBEIRA et al., 2015). Com isso, o polissacarídeo modificado pode interagir de forma a gerar sistemas nanoparticulados mais estáveis e com maior capacidade de serem utilizados para o desenvolvimento de sistemas de liberação (RIBEIRO et al., 2016).

Polissacarídeos a base de plantas têm sido estudados para diversas aplicações farmacêuticas por serem biocompatíveis, biodegradáveis e economicamente viáveis. Dentre estes, tem-se como exemplo, a goma do angico, um polissacarídeo proveniente da exsudação do caule da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* que possui em sua composição arabinose, galactose, ácido glucurônico e ramnose (DELGOBO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2009a; PAULA et al., 2010).

Nevirapina é um fármaco antiretroviral pertencente a classe inibidores da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo e amplamente utilizada para a terapia antirretroviral juntamente com outros fármacos da mesma classe (DU et al., 2015; RIVAS; SANCHEZ-CORTES; GARCÍA-RAMOS, 2002). Foi utilizada no presente estudo como fármaco modelo para o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas utilizando goma do angico ftalada. Para aplicação das nanopartículas em via de administração transdérmica, as nanopartículas foram incorporadas em microagulhas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo promover a modificação química da goma do angico por ftalação para obtenção de nanopartículas com nevirapina, e avaliar a viabilidade desses nanossistemas em microagulhas como modelo de dispositivo transdérmico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente trabalho tem como objetivos específicos:

- Revisar os recentes avanços sobre sistemas de liberação baseados em goma do angico;
- Realizar a modificação de ftalação da goma do angico e caracterizar a goma do angico ftalada (PAG) por IV, RMN ^1H , análise elementar, ensaio de solubilidade, cromatografia de permeação em gel (GPC), análises termogravimétricas (TG, dTG);
- Avaliar o potencial da PAG para a produção de nanopartículas visando o encapsulamento do fármaco nevirapina;
- Determinar os parâmetros críticos que influenciam na produção das nanopartículas PAG-NVP utilizando o planejamento de experimentos *Plackett-Burman* e avaliar as características da nanopartícula obtida;
- Incorporar a nanopartícula otimizada em microagulhas e avaliar o potencial de utilização desse dispositivo como sistema de liberação transdérmico.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 POLISSACARÍDEOS

Os polissacarídeos são uma classe de materiais poliméricos de origem natural (animal, vegetal ou de alga) formados por meio de ligações glicosídicas de monossacarídeos e que podem, ainda, ser de cadeia linear ou ramificada (SEIDI et al., 2018). Esses materiais tem sua relevância devido a grande gama de aplicações, explorados para uso na indústria de papel, têxtil, alimentícia, de cosméticos e farmacêutica (GOSWAMI; NAIK, 2014). No que se refere a sua estrutura, os monossacarídeos mais comumente encontrados em polissacarídeos são: arabinose, galactose, glicose, ramnose, manose, xilose, ácido glucurônico, galacturônico, entre outros (Figura 1) (WANG et al., 2018b).

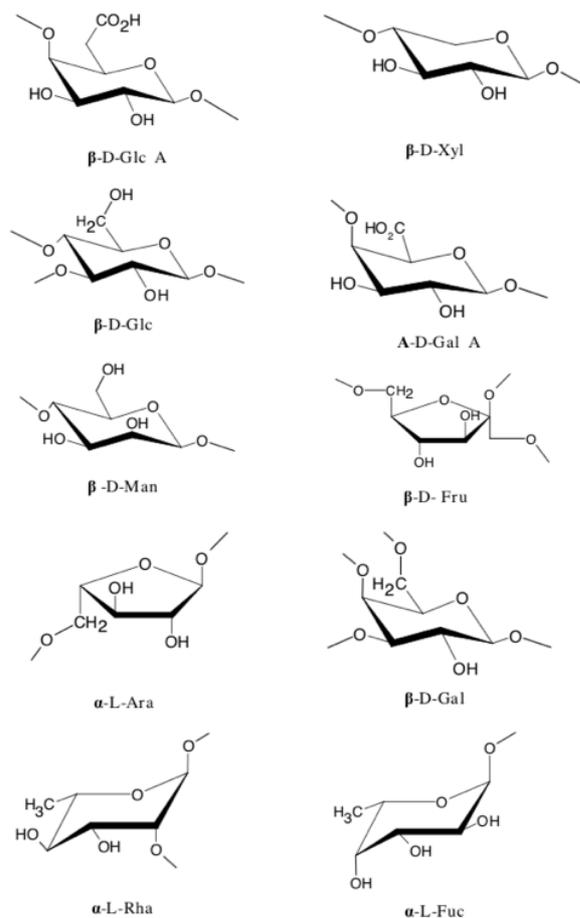


Figura 1 - Monossacarídeos que compõem polissacarídeos.

Fonte: (OLIVEIRA, 2005) com modificações.

Os polissacarídeos diferem-se entre si em relação a porcentagem de suas unidades de monossacarídeos, composição, tipo de ligação que une as unidades, grau de ramificação e comprimento da cadeia (SEIDI et al., 2018). Esses materiais são altamente abundantes e suportam uma grande variedade de funções. Por isso, esses materiais podem ser classificados de diferentes formas, por exemplo: (1) de acordo com sua origem, (2) de acordo com seus componentes ou (3) de acordo com suas funções biológicas (MUKHERJEE et al., 2022). Essas classificações ainda podem ser subdivididas como:

(1) De acordo com a origem, os polissacarídeos podem ser subdivididos como de fungos, de algas (por exemplo, carragenana, ulvana), de microrganismos e de plantas. (BEAUMONT et al., 2021)

(2) De acordo com os componentes, os polissacarídeos podem ser subdivididos em homopolissacarídeos, cadeia polimérica composta por monômeros, e heteropolissacarídeos, compostos por duas ou mais unidades de sacarídeos distintos (MUKHERJEE et al., 2022).

(3) De acordo as funções biológicas, são subdivididos em: aqueles que possuem função de proporcionar armazenamento de reserva celular (amido, inulina, mananas, xiloglucanos), aqueles que fazem parte da parede celular (pectina, celulose) e as gomas de exsudatos (GOPINATH et al., 2018; HEDAYATI; NIAKOUSARI; MOHSENPOUR, 2020; RANA et al., 2011).

As gomas de exsudato são polissacarídeos produzidos por árvores em resposta a algum tipo de estresse, como lesão física em seu caule. As classes de heteropolissacarídeos que comumente formam sua cadeia polimérica são arabinogalactanas, glucoromananas e galacturonanas (MUKHERJEE et al., 2022). São exemplos de gomas de exsudatos: goma do cajueiro, goma karaya e goma do angico. Como objeto chave do presente trabalho, a goma do angico foi detalhada em um artigo de revisão que se encontra no capítulo três da tese.

Devido a suas propriedades, as gomas são utilizadas na indústria farmacêutica como aglutinantes, espessantes, agentes de suspensão, emulsificantes (GOSWAMI; NAIK, 2014). Por se tratar de um material biocompatível, suas aplicações biomédicas estão sendo ampliadas nos últimos anos. Exemplo disso é o sucesso de sua aplicação em engenharia de tecidos (KOYYADA; ORSU, 2021). Gomas também estão sendo amplamente exploradas em sistemas de liberação de fármacos, com a produção de micropartículas e nanopartículas e promovendo a liberação controlada de fármacos (RIBEIRO et al., 2016; VERMA; SHARMA, 2021).

Uma forma de potencializar as características dos polissacarídeos e ampliar a aplicação de polissacarídeos é através da modificação química (MALVIYA; SHARMA; DUBEY, 2016). A modificação química por ftalação é um exemplo.

3.1.1 A modificação de polissacarídeos por ftalação

A ftalação é uma reação que ocorre por meio da interação entre um determinado grupo funcional do polissacarídeo e o anidrido ftálico. Essa modificação está sendo explorada nos últimos anos para alguns polissacarídeos como quitosana (NWAGU et al., 2017), celulose proveniente do bagaço de cana de açúcar (LIU et al., 2007), mesocarpo do babaçu (VIEIRA et al., 2010) e goma do cajueiro (LUSTOSA et al., 2017). A Tabela 1 representa as principais características dessas modificações.

Tabela 1 - Modificação de biopolímeros por ftalação.

Biopolímero	Reagentes	Condições	Aplicação	Referência
Celulose do bagaço de cana-de-açúcar	anidrido ftálico / AGU	temperatura: 20-120, tempo de reação: 20-120 proporção AF/AGU:	-	(LIU et al., 2007)
Quitosana	6 mg + (10 mg de AF em 8 mL de NAOH)	Temperatura ambiente Tempo: 1 h	-	(NWAGU et al., 2017)
Mesocarpo do babaçu (MB)	AF	AF/MB – 10:1 Temperatura: Tempo: 20 min		(VIEIRA et al., 2010)
Goma do cajueiro	AF (livre de solventes)	Proporção AF/GC 5:1 Temperatura: 131°C Tempo: 40 min	Hidrogéis de PhCG + CMC nanopartículas de prata	(LUSTOSA et al., 2017)
Goma do cajueiro	AF	Proporção AF/GC 2:1 ou 5:1 Temperatura: 130 °C Tempo 20 ou 40 min	Nanopartículas de prata com PhGC	(OLIVEIRA et al., 2019)
Goma do cajueiro	AF + dimetil-formamida	Utilizando micro-ondas (potência de 160 ou 250W) Proporção AF/GC 2:1 Tempo de reação 3 ou 8 min	Nanopartículas	(OLIVEIRA et al., 2021)
Goma do chichá	AF	Proporção AF/GC 2:1 Temperatura: 131°C Tempo: 30 min	Atividade antimicrobiana	(SILVA et al., 2021)

Legenda: AF: anidrido ftálico, AGU: anidroglicose, PhCG: goma do cajueiro ftalada, CMC: carboximetilcelulose.

Diferentes materiais já foram utilizados para modificação química por ftalação. No estudo descrito por LIU (2017), foi utilizado celulose proveniente do bagaço de cana-de-açúcar e vários parâmetros do processo de modificação foram analisados com o objetivo de encontrar as características ideais para o derivado. Os autores avaliaram as características dos derivados

obtidos por RMN, FTIR e análise térmica, no entanto, não foi delineado nenhuma aplicação para estes. Foi citado apenas que poderia ser útil para aplicações industriais (LIU et al., 2007).

Um outro trabalho estudou a influência das modificações com anidrido maléico, anidrido succínico e anidrido ftálico para o mesocarpo do babaçu. Uma vantagem dessa modificação seria a ausência de solventes durante a reação, nesse caso, o reagente anídrico foi aquecido até fundir-se e, em seguida, foi mantido em contato com o biopolímero. Os materiais foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, grau de substituição e termogravimetria. O mesocarpo do babaçu ftalado foi aplicado para a sorção de metais (VIEIRA et al., 2010).

Como já foi dito anteriormente, é interessante promover a modificação química para ampliar as aplicações de um polissacarídeo. A goma do chichá ftalada, por exemplo, apresentou-se como um material promissor para aplicações biomédicas devido a suas propriedades antibacterianas (SILVA et al., 2021). A goma do cajueiro ftalada já foi utilizada para produção de hidrogéis (LUSTOSA et al., 2017), produção de nanopartículas de prata (OLIVEIRA et al., 2019) e, para o encapsulamento do fármaco benzinidazol (OLIVEIRA et al., 2021). Essas evidências científicas demonstram o potencial de aplicação da reação de ftalação na produção de nanopartículas poliméricas.

3.2 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS BASEADOS EM POLISSACARÍDEOS

Sistemas de liberação de fármacos correspondem a uma estratégia promissora na área farmacêutica. Num primeiro momento, eram aplicados apenas para moléculas pequenas com o objetivo de melhorar a solubilidade, controlar a liberação, ajustar a farmacocinética. Novos desafios também foram surgindo com a expansão da terapêutica para proteínas, peptídeos, anticorpos monoclonais, ácidos nucleicos e, inclusive células vivas. Nesses casos, era requisitado promover melhora da estabilidade, possibilidade de entrega intracelular, por exemplo (VARGASON; ANSELMO; MITRAGOTRI, 2021).

Ao longo dos anos, vários sistemas de liberação foram surgindo de acordo com o objetivo terapêutico do dispositivo: microagulhas, filmes poliméricos, hidrogéis responsivos, dispositivos inalatórios, cápsulas responsivas ao pH, implantes de liberação controlada, dispositivos intrauterinos, micropartículas, microcápsulas, nanopartículas baseadas em lipídeos, nanocápsulas, nanopartículas, entre outros (DA CUNHA et al., 2020; GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021; SONETHA; MAJUMDAR; SHAH, 2022; SWAIN; PRATAP SINGH; YADAV, 2021).

As nanopartículas constituem uma plataforma única para encapsular combinações de fármacos e sincronizar a liberação destes. Possuem várias vantagens em relação à um medicamento tradicional, incluindo: melhoria da solubilidade e biodisponibilidade, prolongamento do tempo de meia-vida, direcionamento e acúmulo dos fármacos em tecidos resultando em redução da dosagem e maior eficácia do tratamento. A aplicação de nanopartículas já proporcionou benefícios terapêuticos no tratamento de diferentes doenças, como malária (EASTMAN; FIDOCK, 2009), HIV (DESTACHE et al., 2010; MANDAL et al., 2017) e câncer (XU et al., 2018).

Nanopartículas podem ser utilizadas em diferentes vias de administração: oral, parenteral e inclusive pela via transdérmica. Esta via corresponde a uma importante estratégia em sistemas de liberação de fármacos.

3.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICOS

3.3.1 Estrutura da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo a principal barreira contra os agentes externos. Este órgão regula a entrada de microrganismos, mantém a temperatura corporal e controla o nível fisiológico da água. O sistema tegumentar é subdividido em três regiões primárias: epiderme, derme e hipoderme (Figura 2) (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; JIANG et al., 2020a).

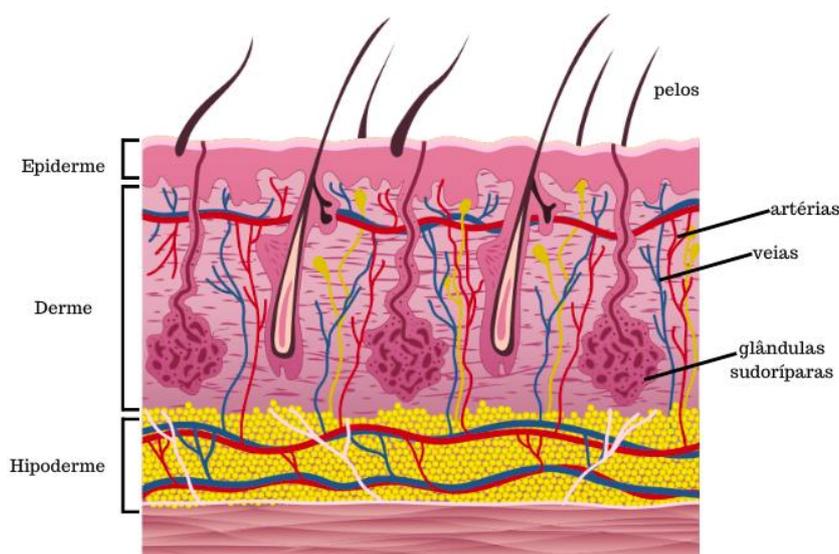


Figura 2 – Detalhes sobre a estrutura da pele e seus constituintes. Fonte: autoria própria.

A epiderme, a camada superficial, é composta principalmente de queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans, entre outros. A superfície da epiderme é chamada de estrato córneo, composta de corneócitos achatados e circundados por uma matriz lipídica. A organização compactada dos corneócitos é o principal fator que limita a passagem do fármaco pela via transdérmica. Esta camada é caracterizada pela constante renovação, dinamismo e movimento contínuo das células. A derme é a camada intermediária, contendo elastina, fibras de colágeno, nervos, macrófagos, glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos capilares, vasos linfáticos, além de ser nutrida por vasos sanguíneos para fornecer suporte estrutural. A hipoderme, por sua vez, consiste principalmente de adipócitos, fibroblastos e macrófagos, e é capaz de proteger contra choques, isolamento térmico e conduzir sinais nervosos (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; GILABERTE et al., 2016; JIANG et al., 2020a).

3.3.2 Fatores que influenciam na permeação

Um medicamento pode atravessar a pele por diferentes caminhos como transporte transfolicular, intracelular e intercelular. Transfolicular é a permeação através dos apêndices da pele, como as glândulas sudoríparas, sebáceas, folículos capilares e poros que podem fornecer dutos que cruzam o estrato córneo. Essa rota é o caminho mais curto para o medicamento, embora possa ser afetada pelas secreções liberadas nessa área. Além disso, representa apenas 0,1% do espaço total da pele, apesar de alguns estudos demonstrarem sua importância na permeação de agentes polares (JHAWAT et al., 2013; JIANG et al., 2020a).

O transporte intracelular ocorre pela permeação nos corneócitos e, devido à queratina hidratada, permite a permeação de compostos hidrofílicos ou polares. Por outro lado, os corneócitos são circundados por lipídios, necessitando de difusão e partição pelos fármacos. A via intercelular permite a passagem de compostos lipídicos não polares através da matriz lipídica contínua presente entre as células. Ambas as vias intercelulares e intracelulares também são chamadas de via transepidérmica (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; JHAWAT et al., 2013; SHAHZAD et al., 2015).

Diversas características físico-químicas do fármaco contribuem para uma permeação eficiente, como coeficiente de partição, peso molecular, pKa, concentração do fármaco, integridade da pele e hidratação (SABRI et al., 2020).

O peso molecular é de grande importância e é inversamente proporcional à absorção. Um peso molecular mais baixo do fármaco promove uma melhor penetração na pele do que um

peso molecular mais alto do fármaco, e a absorção também pode ser melhorada (SINGPANNA et al., 2021). Moléculas com mais de 500 daltons não penetram na pele de maneira eficaz (KUMAR; PHILIP, 2007; YANG et al., 2019).

O pH do fármaco deve ser o pH do estrato córneo, que varia entre 4,2 e 5,6. Quanto mais próximo o pH do fármaco estiver dessa faixa, menor o grau de ionização e, conseqüentemente, a permeabilidade pode ser melhorada. Um Log P mais alto é uma característica dos medicamentos não ionizados que devem ter o melhor coeficiente de permeabilidade da pele (NEUPANE et al., 2020).

Outro determinante que contribui para a penetração transdérmica é a concentração do fármaco. A passagem do fármaco pela pele pode ocorrer por difusão passiva, e uma concentração mais alta do fármaco pode promover uma taxa de difusão mais alta. Além disso, é necessário considerar a viscosidade da formulação uma vez que foi observado que fluidos muito viscosos proporcionam uma taxa de difusão diminuída (JHAWAT et al., 2013).

Também é essencial considerar as condições da pele. Normalmente, uma pele íntegra e hidratada absorve a formulação com mais eficiência do que uma pele ressecada. Outra característica a ser considerada é a temperatura da pele, que pode promover vasodilatação e aumentar a taxa de permeação (SARAVANAKUMAR et al., 2015).

3.3.3 Limitações dos sistemas transdérmicos convencionais

A penetração através da pele é o principal obstáculo em sistemas de liberação transdérmicos (FONSECA et al., 2020). Como pode ser visto no tópico anterior, para superar o estrato córneo é preciso entender muito bem as características do fármaco e/ou sistema de liberação e avaliar a capacidade de penetração.

Uma estratégia utilizada é por meio dos intensificadores de penetração. No entanto, há relatos de irritação da pele por parte de alguns compostos, o que pode influenciar na saúde da pele. E, mesmo assim, esse tipo de estratégia não é capaz de promover a permeação de macromoléculas (SABBAGH; KIM, 2022). Entre as várias estratégias para superar essas dificuldades, as microagulhas constituem-se como um dispositivo que vem ganhando força nos últimos anos (YANG et al., 2021).

3.4 MICROAGULHAS

Dentre os sistemas de liberação disponíveis para superar o estrato córneo e promover a administração transdérmica de medicamentos, o dispositivo que ganhou destaque nos últimos anos tem sido as microagulhas (VORA et al., 2021). ~~As microagulhas estão se constituindo em sistemas de distribuição transdérmica de terceira geração.~~ A sua aplicação na pele constitui uma grande vantagem, que ocorre de forma indolor, rápida e pelo próprio paciente (KIM; PARK; PRAUSNITZ, 2012). Essa tecnologia permite a formação de microporos no estrato córneo para promover a administração de um medicamento, antígeno ou agente diagnóstico específico. Dessa forma, a substância ativa pode atingir a camada derme, onde estão os vasos sanguíneos (POIRIER et al., 2017). Devido a esses fatores, as microagulhas expandiram muito o arsenal de compostos capazes de serem administrados por via transdérmica, como macromoléculas (ZHANG et al., 2021a).

A capacidade de permear a pele e fornecer o componente ativo depende das características das microagulhas. Esses dispositivos são fabricados de maneiras e materiais diferentes (VORA et al., 2021). Durante o processo de desenvolvimento de um dispositivo contendo microagulhas, é preciso otimizar o comprimento, largura e pontas das agulhas para uma inserção adequada no tecido (SABRI et al., 2020). MN pode ser classificado em diferentes tipos, tais como microagulhas sólidas, revestidas, ocas, dissolúveis e formadoras de hidrogel (Figura 3) (PAHAL et al., 2021).

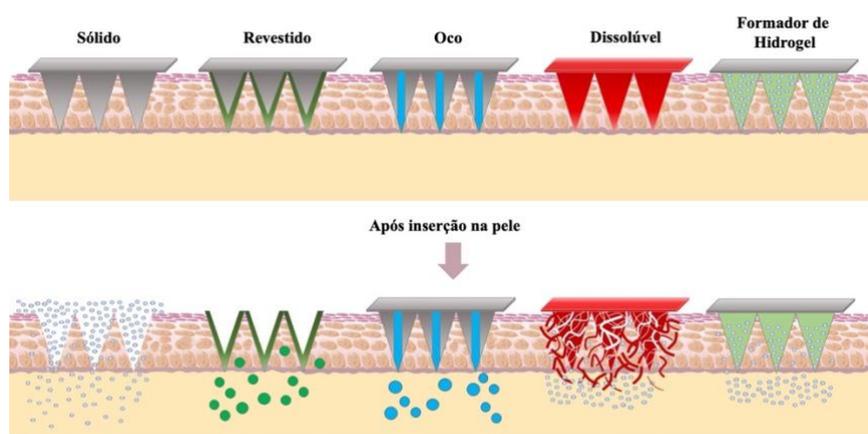


Figura 3 - Tipos de microagulhas para sistemas de aplicação transdérmica: sólida, revestida, oca, dissolúvel e formadora de hidrogel. Adaptado de (DE OLIVEIRA et al., 2022).

Microagulhas do tipo sólidas são dispositivos que proporcionam orifícios na pele e são removidos, em seguida, uma determinada formulação pode ser adicionada na pele. Dessa forma, percebe-se que esse tipo de dispositivo funciona como um pré-tratamento da pele para

proporcionar melhor permeação da formulação, que geralmente é semissólida. Esse tipo costuma ser em formato de rolo para facilitar o deslizamento na pele (AZMANA et al., 2020).

Microagulhas revestidas contêm o fármaco acumulado em sua superfície, que geralmente é rapidamente liberado após a aplicação. Já as microagulhas ocas possuem a superfície rígida e contêm orifícios. Estes funcionam como micro canais capazes de promover a infusão da formulação na pele durante sua aplicação (MONIZ; COSTA LIMA; REIS, 2021).

As microagulhas dissolúveis são produzidas para se dissolver rapidamente após a aplicação no corpo. Dependendo de sua constituição, esse tipo pode promover uma liberação rápida ou controlada do fármaco. As microagulhas formadoras de hidrogel, por outro lado, são capazes de absorver o líquido intersticial e o fármaco é liberado gradualmente por meio de difusão (HUANG et al., 2022).

Vários relatórios evidenciam as vantagens terapêuticas da incorporação de nanopartículas em MN (AHMED et al., 2019; CASTILLA-CASADIEGO et al., 2021b; LIU et al., 2018). As microagulhas entregam as nanopartículas distribuídas uniformemente, alcançando a derme e possivelmente a via sistêmica (CHEN et al., 2020).

3.5 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS PARA O DELINEAMENTO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO

Quando se busca avaliar os diversos parâmetros de um processo é necessário partir para processos estatísticos. Existem vários métodos disponíveis, entre eles pode-se citar planejamento fatorial completo, planejamento Plackett-Burman, planejamento Box-Behnken (VENKATARAGHAVAN; THIRUCHELVI; SHARMILA, 2020). Essas ferramentas de desenho experimental estatístico já se mostraram eficientes para o desenho de várias formulações farmacêuticas (HOSNY et al., 2018; KOZLU et al., 2018; SHAH et al., 2013).

O design estatístico do tipo *Plackett-Burman*, por exemplo, é uma ferramenta utilizada para avaliação preliminar, através da investigação de variáveis e determinação de parâmetros críticos da formulação e do processo de produção (CHAVES et al., 2017).

Com esta ferramenta estatística é possível avaliar uma grande quantidade de variáveis com menor número de experimentos e elevada acurácia. Com isso, podem ser selecionados os fatores críticos que mais influenciam e, em seguida, para uma avaliação seguinte mais detalhada (KOZLU et al., 2018; PARK et al., 2013). Uma outra ferramenta que pode ser utilizada em seguida, corresponde a determinação dos parâmetros de desejabilidade. Nesse caso, após a

avaliação dos parâmetros críticos de produção é possível otimizar os parâmetros teóricos que podem gerar resultados mais significativos.

3.6 HIV E TERAPIAS ANTIRRETROVIRAIS

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida ainda acomete uma elevada parcela da população mundial, são mais de 37,7 milhões de adultos e aproximadamente 1,7 milhões de crianças menores de 15 anos vivendo com o vírus HIV em 2020. Dados epidemiológicos evidenciaram ainda que 99.000 crianças e 580.000 adultos tiveram morte relacionada com HIV em 2020 (UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. UNAIDS, 2021).

A terapia combinada com três ou quatro fármacos antirretrovirais é o tratamento inicial recomendado, essa estratégia permite maximizar a supressão da replicação viral, restaurar o sistema imune, retardar a progressão da doença e aumentar a sobrevida (BAMFORD et al., 2018; BRASIL, 2017). No entanto, por se tratar de uma terapia complexa, ainda existe uma lacuna relacionada ao desenvolvimento formulações promoveria segurança e eficácia à terapia, além da melhoria na adesão ao tratamento, principalmente por parte da terapia infantil. Nesse caso, os pontos críticos para aceitação do tratamento são: quantidade de medicamentos utilizados na terapia, forma de apresentação, sabor da medicação, frequência na administração de medicamentos (WHO, 2018). Além disso, os fármacos antirretrovirais ainda apresentam problemas relacionados com baixa biodisponibilidade o que influencia diretamente na efetividade do tratamento. Para tanto, são necessárias estratégias que permitam melhoria da terapia antiretroviral adequada (PENAZZATO et al., 2018).

A terapia antiretroviral ideal para o tratamento de HIV deve ser de fácil uso, segura e bem tolerável e que possa promover a supressão do vírus por um longo período (RADIX; SEVELIUS; DEUTSCH, 2016). Baseado nisso, já está estabelecido que a terapia antiretroviral nunca deve ser com um único medicamento, pois a monoterapia ou terapia com dois medicamentos leva a mutações do vírus o qual torna-se resistente aos fármacos. Dessa forma, a estratégia combinada com três ou mais fármacos ARV tornou-se o protocolo clínico de tratamento de HIV desde 1996 (SIKSHA; SIKSHA, 2014).

3.6.1 Nanopartículas para a terapia antiretroviral

Nos dias atuais, um dos obstáculos para o tratamento de HIV está relacionado com a tentativa de se erradicar o vírus que se encontram como reservatórios em determinadas células do organismo. Determinadas regiões como tecido linfoide associado ao intestino, linfonodos, trato genital e o sistema nervoso central abrigam células infectadas com o vírus de forma latente, que acabam promovendo a reinfeção de outras células e, conseqüentemente, são responsáveis pela disseminação do vírus por todo o organismo. Esses tecidos exibem acesso limitado aos ARVs, contribuindo para a persistência viral. Para tanto, inúmeras abordagens visam diminuir esses reservatórios de HIV (NAIR et al., 2016; WALVEKAR; GANNIMANI; GOVENDER, 2019; WONG et al., 2010).

Além disso, o desenvolvimento do cérebro se inicia desde o início do primeiro trimestre de um bebê e continua até próximo da fase adulta. Essa imaturidade do SNC em crianças infectadas pelo vírus HIV faz com que estejam susceptíveis à determinados danos que podem comprometer suas estruturas e funcionamento, podendo gerar problemas neurológicos irreparáveis (ABRAMS et al., 2018). Esse motivo ressalta ainda mais a importância em se desenvolver uma terapia eficaz que promova maior direcionamento dos fármacos a reservatórios.

As nanopartículas se mostram como uma estratégia adequada para o tratamento do HIV pois pode promover melhoria da biodisponibilidade e de perfis farmacocinéticos dos fármacos, redução da toxicidade do fármaco, evitar a resistência ao fármaco mediada pela bomba de efluxo da superfície das células, aumento da eficácia, capacidade de permear nos locais dos reservatórios do HIV e capacidade de liberar os fármacos em taxas controladas para administração sustentada (ABO-ZEID et al., 2018; CAO; WOODROW, 2018). Além disso, ressalta-se a importância de se proporcionar efeito sinérgico através da combinação de múltiplos fármacos em uma única partícula (HU; ZHANG, 2012).

Nos últimos anos, indústrias e grupos de pesquisa em universidades em todo o mundo tem trabalhado para o desenvolvimento sistemas nanoparticulados visando melhorias para o tratamento e prevenção do HIV. Um dos objetivos dessas nanoformulações correspondem a promover a liberação prolongada dos fármacos. Um estudo, por exemplo, foi capaz de encapsular os fármacos tenofovir alanfetamina, elvitegravir e emtricitabina em nanopartículas desenvolvidas com PLGA (poli-ácido láctico co-glicólico). ~~As formulação de nanopartículas contendo os três fármacos demonstrou potencial de liberação sustentada e os autores a sugerem como uma alternativa para tratamento crônico (MANDAL et al., 2018).~~

3.6.2 Sistemas de liberação transdérmicos como estratégia para a terapia antiretroviral

Para obter o sucesso terapêutico na terapia antiretroviral é necessário que o nível de adesão ao tratamento seja superior a 95%. Levando em consideração ainda que vários antirretrovirais apresentam desafios quanto a terapia pela via oral, a via transdérmica se mostra como uma alternativa para promover níveis sustentados de fármaco. Além disso, uma formulação de ação prolongada que diminui o número de dosagens pode proporcionar aumento da adesão ao tratamento (DUBEY et al., 2010; JIANG et al., 2020b).

Formulações de Etoossomos, sistemas de liberação baseados em lipídeos e etanol, foram aplicados para liberação transdérmica do fármaco lamivudina. O estudo mostrou que a formulação apresentou permeação através da pele 25 vezes maior que uma solução de lamivudina. Também foi verificado uma captação intercelular maior para a formulação de etossomas (JAIN et al., 2007).

Um estudo recente desenvolveu microagulhas dissolúveis de PLGA contendo o fármaco fumarato de tenofovir alanfetamina para liberação transdérmica. Foi determinado que as microagulhas apresentaram propriedades mecânicas suficientes para promover a perfuração de pele de suínos. Além disso, foi demonstrado que a formulação promoveu uma liberação sistêmica do fármaco em 24 horas de ensaio (PAREDES et al., 2022).

Alguns estudos, inclusive, foram capazes de proporcionar a entrega de fármacos antirretrovirais ao sistema linfático por via transdérmica. Em 2018, um estudo relatou a incorporação da nanosuspensão de rilpivirina em um adesivo de microagulhas dissolvido com o objetivo de promover a liberação transdérmica do medicamento anti-HIV. Os estudos *in vivo* revelaram que a concentração plasmática média de rilpivirina em ratos foi aproximadamente dez vezes superior à concentração mínima observada após uma dose única em estudos clínicos anteriores. Embora a distribuição linfática não tenha sido o foco principal do estudo, o estudo farmacocinético mostrou uma quantidade significativa da droga neste compartimento (MC CRUDDEN et al., 2018).

3.6.3 Nevirapina

Nevirapina é uma dipiridodiazepinona (11-ciclopropil-5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona) cuja fórmula molecular é $C_{15}H_{14}N_4O$ de massa molar 266,30 g/mol. Atua inibindo a enzima transcriptase reversa, enzima responsável pela transcrição reversa do RNA viral em DNA. É amplamente utilizada em associação com outros

dois fármacos análogos de nucleosídeos ~~para a terapia antirretroviral,~~ atuando como componente importante da terapia antiretroviral altamente eficaz (PEREIRA et al., 2007).

É um fármaco que faz parte da classe 2, de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica (GARKAL; AVACHAT, 2022). Característica referente a fármacos de baixa solubilidade em água (0,1 mg/mL) e alta permeabilidade. A dose usual de nevirapina é responsável por causar uma série de efeitos colaterais como hepatite, insuficiência hepática, disfunção renal, eosinofilia, granulocitopenia, linfadnopia, entre outros (VARSHOSAZ et al., 2018a).

4 MÉTODOS

O artigo 1 trata sobre uma avaliação do potencial da goma do angico em aplicações industriais e o artigo 2 trata sobre a modificação química da goma do angico por ftalação e produção de nanopartículas a partir desse biomaterial (artigo publicado na revista *International Journal of Biological Macromolecules*).

O artigo 3 discorre sobre a incorporação das nanopartículas de goma do angico ftalada em microagulhas para aplicação transdérmica de fármacos.

5 RESULTADOS

5.1 ARTIGO 1: GOMA ANGICO: UM BIOMATÉRIAL PROMISSOR PARA FUTURAS APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS E BIOTECNOLÓGICAS

1. Introdução

Atualmente existe uma busca por novos materiais sustentáveis que podem ser aplicados na área farmacêutica. Os polissacarídeos são materiais promissores em diversas áreas. Dentre os diversos materiais disponíveis na natureza, os biopolímeros constituem uma plataforma promissora para diversas aplicações. Estudos científicos exemplificam o sucesso do emprego de polissacarídeos como quitosana, alginato, sulfato de dextrano e goma do cajueiro nas aplicações citadas (DIAS et al., 2016; JOYE; MCCLEMENTS, 2014; LIMA et al., 2018; PITOMBEIRA et al., 2015; VASCONCELOS SILVA et al., 2019; WANG et al., 2016b).

Os polissacarídeos a base de plantas têm sido estudados por serem biocompatíveis, biodegradáveis e renováveis. Dentre estes, tem-se como exemplo, a goma do angico, um polissacarídeo proveniente da exsudação do caule da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*. que possui em sua composição arabinose, galactose, ácido glucurônico e ramnose (DELGOBO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2009a; PAULA et al., 2010). A árvore é popularmente conhecida como “angico vermelho”, abundante na região nordeste do Brasil (PAULA et al., 2010).

O presente artigo tem como objetivo realizar um estudo de revisão sobre as principais características da goma do angico. Será tratado sobre sua origem, composição, características reológicas. Além disso, foi comentado sobre a possibilidade de produzir modificações com goma do angico e as diversas aplicações nos campos tecnológicos e farmacológico os quais esta goma foi utilizada.

2. Árvore Angico

Anadenanthera é um gênero da família Fabaceae e subfamília Mimosoidae composto pelas espécies *A. colubrina* e *A. piperina*. As espécies desse gênero são comuns na América do Sul, podendo ser encontradas desde o nordeste até o sul do Brasil. Comumente chamado de angico, as árvores desse gênero podem chegar a 7 m de altura, com caule de até 50 cm de largura (TORRES; REPKE, 2006).

A árvore angico possui nome científico *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul e já foi chamado de *Anadenanthera macrocarpa*, no entanto, após revisão taxonômica passou a ser chamada de *Anadenanthera colubrina*. A partir do tronco desta árvore é retirado naturalmente o exsudato do qual se pode extrair uma goma, chamada de goma do angico.

Relatos indicam que tanto a goma quanto a casca do caule do angico são utilizadas popularmente como remédios desde a antiguidade. Caracterizada por sabor adstringente e amargo, a casca contém principalmente compostos fenólicos, taninos e saponinas em sua estrutura. Ela é amplamente utilizada para tratamento de diarreia e doenças respiratórias (MOTA et al., 2017). Em algumas regiões do Brasil, a casca também é utilizada para curtir couro e como formicida (LORENZI, 1998). O exsudato do angico é um material de coloração amarelo-âmbar (Figura 2). Utilizado popularmente como expectorante para o tratamento de tosse, bronquite, asma e faringite (LORENZI, 1998).

Nos últimos anos ocorreu maior interesse pelo tema, esse aspecto pode ser comprovado por um aumento progressivo do número de publicações que utilizaram o termo “*anadenanthera*” or “angico” nas bases de dados (Figura 1). No entanto ainda é um número pequeno ao se comparar com outros polissacarídeos, indício de que tal gênero ainda é pouco explorado.

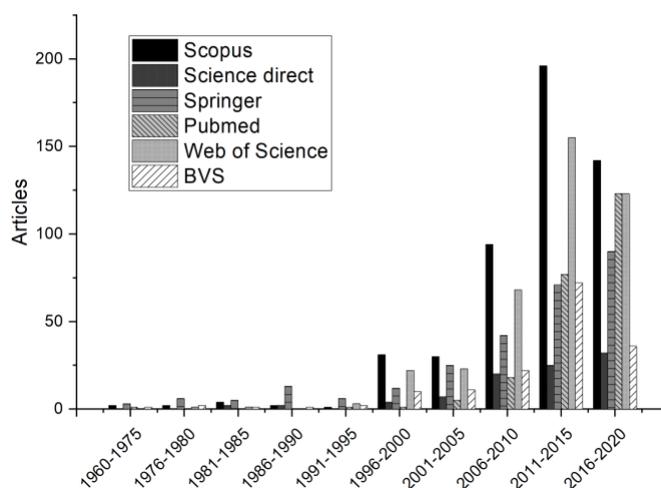


Figura 1 - Progressão temporal de publicações contendo os termos “Anadenanthera” or “angico” (A), imagem do exsudato angico (B) e goma do angico após o processo de purificação (C).

3. Goma do angico: principais características

Classificada como uma arabino-galactana, é sugerido que a AG seja um heteropolissacarídeo composto por aproximadamente 63-67% de arabinose, 20% de galactose, 10% de ácido glucurônico e 6% de ramnose (Tabela 1) (DE PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997; DELGOBO et al., 1998). Este polissacarídeo organiza-se estruturalmente com uma cadeia principal de β -D-Galactopiranosose (1 \rightarrow 3) ligada por cadeias laterais de constituição variada, as quais podem ser compostas por oligossacarídeos de 2, 3, 5 ou 7 unidades de α -arabinofuranose, α -rhamnopiranosose e β -glucopiranosil ácido (DELGOBO et al., 1998, 1999). Análises de RMN ^1H da goma do angico evidenciam as seguintes características, principalmente: grupo metil de ramnose em 1,33 ppm, H1 de galactose em 4,55 ppm e H1 de

de arabinose em 5,26 ppm. Em 17.5 ppm – grupos metil de ramnose, em 90-110 ppm – carbonos anomérico (OLIVEIRA et al., 2007).

Tabela 1 - Composição da goma do angico.

Região da coleta	arabinose	galactose	ácido glicurônico	rhamnose	Manose	Proteínas	Referência
Paraná - Brazil	64%	20%	10%	6%	1%	-	(DELGOBO et al., 1998, 1999)
Ceará - Brazil	67,8%	24,1%	5,9%	2,0%	-	5,8%	(SILVA; RODRIGUES; PAULA, 1998)
Ceará - Brazil	67±3%	24±3%	7±1%	2±0,5%	-	-	(DE PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997)

A composição da goma do angico, obviamente, tem influência nas suas propriedades físico-químicas e deve ser detalhada para melhor aproveitamento de suas características. Foi observado que essa goma possui uma larga distribuição de massa molar com $M = 3,7 \times 10^6$ g/mol e caracterizada por possuir baixa viscosidade, semelhante à goma do cajueiro e arábica (EIRAS et al., 2007). O estudo de cromatografia de permeação em gel (GPC) da goma do angico mostrou um comportamento multimodal, indicando que este biopolímero é altamente ramificado (DE PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997). A goma do angico apresenta baixa viscosidade da goma do angico: 11 cm³/g em 1 M NaCl à 25 °C (REFERENCIA).

Alguns estudos sugerem que a goma do angico em si possui algumas aplicações biológicas. Um estudo, por exemplo, sugeriu que AG tenha capacidade de ativação de macrófagos pois, foi verificado em experimentos *in vitro* e *in vivo* modificação da resposta biológica devido ao aumento da porcentagem de macrófagos ativados devido a presença de Ag (MORETÃO et al., 2003). Outro estudo do mesmo autor verificou aumento da produção de TNF-alfa por macrófagos. Além disso, neste mesmo estudo foi sugerido que a concentração de 100mg/kg de AG apresentou atividade anti-tumoral contra células S-180 (MORETÃO et al., 2004).

Um trabalho realizado em ratos sugeriu que AG pode possuir atividade antidiarreica, pois verificou que o biopolímero teve influência no aumento da atividade Na⁺/K⁺-ATPase, redução do trânsito gastrointestinal e diminuição contração do músculo do intestino de ratos (ARAÚJO et al., 2020).

4. Modificações química da goma do angico e suas aplicações

O polímero modificado pode apresentar propriedades superiores ao material de origem em termos de solubilidade, mucoadesão, sensibilidade ao pH (GOSWAMI; NAIK, 2014). Contudo, os polissacarídeos possuem cadeias hidrofílicas, o que dificulta sua interação para o desenvolvimento de sistemas. Uma alternativa que tem sido utilizada para superar essas dificuldades são as modificações químicas em sua estrutura com a finalidade de se obter um material com características físico-químicas desejadas (RIBEIRO et al., 2016).

Por exemplo, recentemente tem-se aumentado o interesse no desenvolvimento de nanopartículas contendo polissacarídeos modificados para uma série de aplicações como: o desenvolvimento de materiais que apresentem interação com metais (GARCÍA-CASAS et al., 2017; VIEIRA et al., 2010), para potencializar sua atividade antimicrobiana (BRAZ et al., 2018), para o desenvolvimento de sistemas larvicidas (PAULA et al., 2012) e para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos (DIAS et al., 2016; LIMA et al., 2018; PITOMBEIRA et al., 2015; VASCONCELOS SILVA et al., 2019).

Os polissacarídeos possuem em sua estrutura uma série de grupos reativos, como por exemplo, hidroxilas e ácidos carboxílicos os quais são susceptíveis a determinadas reações, tais como carboximetilação (OLIVEIRA et al., 2007), sulfatação (WANG et al., 2018b), acetilação (VASCONCELOS SILVA et al., 2019), quaternização (QUELEMES et al., 2017) e ftalação (LUSTOSA et al., 2017).

Na área farmacêutica, a modificação de um polissacarídeo pode ser necessária para direcionar o fármaco a um local específico, melhorar a solubilidade do fármaco, melhorar a estabilidade térmica do sistema, reduzir o efeito tóxico do fármaco, promover liberação controlada de um fármaco, entre outros (JOYE; MCCLEMENTS, 2014; MALVIYA; SHARMA; DUBEY, 2016).

A tabela 2 evidencia as três modificações químicas produzidas até então para AG e as tabelas 3 e 4 mostram um resumo das aplicações biotecnológicas e farmacêuticas produzidas a partir desse biomaterial.

Tabela 2 - Modificações químicas da goma do angico e suas características principais.

	AG Carboximetilada	AG Quaternizada	AG Ftalada
FTIR	-	Banda na região de 1480 cm ⁻¹ referente ao C-H de grupo metila de amônio quaternário. Banda em 1420 cm ⁻¹ referente a C-N. (De Sousa, 2020)	Banda em 1279 cm ⁻¹ : alongamento C-O. Banda em 1702 cm ⁻¹ : alongamento C=O. Bandas em 2651 e 2523 cm ⁻¹ : grupo éster de ácido carboxílico (DE OLIVEIRA et al., 2021)
¹H RMN	-	(Quaternização) 3.14 ppm – do grupo N,N,N-trimetil. (De Sousa, 2020)	Sinais entre 7,5 e 8,0 ppm, relacionados à inserção do grupo ftalato nas unidades de polissacarídeo (DE OLIVEIRA et al., 2021)
¹³C RMN	Evidências de carboximetilação: picos em 178.9, 178.7 e 178.4 referente aos grupamentos carbonilas (Oliveira, 2007).	-	-

Legenda: AG, goma do angico

A carboximetilação foi a primeira modificação química relatada na literatura para a goma do angico. Além de propor a modificação química como melhoria das suas características, o estudo avaliou os principais fatores que poderiam influenciar no grau de substituição da modificação. Os parâmetros do processo de modificação química estudados foram: volume de NaOH, volume de ácido monocloroacético e temperatura. Nesse estudo foi observado que o GS variou de 0,11 a 1,10 e os modificados foram caracterizadas por RMN e GPC para determinação da massa molar (OLIVEIRA et al., 2007).

A segunda modificação química encontrada para goma do angico foi por quaternização. Um primeiro trabalho que propôs essa modificação também avaliou possíveis variáveis do processo que pudesse influenciar na produção dos derivados, como rendimento e atividade anti-estafilococos. As variáveis estudadas foram: proporção molar entre os componentes da síntese, temperatura e tempo de reação. Três de sete derivados obtidos inicialmente foram selecionados para avaliação da atividade anti-estafilococos (DE SOUSA et al., 2020).

Esse estudo mostrou que a goma do angico quaternizada inibiu o crescimento de *S. aureus* resistente a metilina (ATCC 43300) e foi capaz de matar a bactéria nas concentrações de 15.62 e 250 µg/mL. Além disso, foi capaz de inibir o crescimento de *S. epidermidis* e de

matar a bactéria nas concentrações de 15.62 e 62.5 µg/mL, respectivamente (DE SOUSA et al., 2020).

Outra modificação química proposta para a goma do angico foi a ftalação. Esse estudo apresentou apenas um derivado proveniente do processo de modificação química para a goma do angico, porém o derivado foi caracterizado por RMN 1H, espectroscopia de infravermelho por transformada de fourrier, termogravimetria, análise elementar e solubilidade. As caracterizações comprovaram o sucesso da modificação química e o derivado foi utilizado produção de nanopartículas e encapsulamento de fármacos (DE OLIVEIRA et al., 2021).

5. Aplicações industriais da goma do angico

Os artigos que exploraram da goma do angico relatam seu uso como: adsorvente de metais pesados (OLIVEIRA, 2005), filme/nanocompósito para utilização em sensores (EIRAS et al., 2007), desenvolvimento de nanopartículas indicando sua possível aplicação para sistemas de liberação de fármacos (OLIVEIRA et al., 2009a) e encapsulação de óleos essenciais para utilização como larvicida (PAULA et al., 2010) .

Polissacarídeos naturais podem sofrer alteração de suas característica físico-químicas devido a inserção de um determinado grupamento em sua estrutura polimérica por meio de modificações como: carboximetilação, aminação, acetilação, ftalação, entre outros (MALVIYA; SHARMA; DUBEY, 2016; PITOMBEIRA et al., 2015).

Tabela 3 - Aplicações tecnológicas da goma do angico

Características da goma	Outro componente	Aplicação tecnológica	Referências
Goma do angico carboximetilada	Quitosana	Avaliou a interação entre quitosana e goma em nanopartículas	(OLIVEIRA et al., 2009b)
Goma Carboximetilada	Quitosana	Encapsulamento do óleo essencial <i>Lippia sidoides</i>	(PAULA et al., 2010)
Goma do angico	-	Filme nanoestruturado para detecção de dopamina em dispositivo biomédico	(EIRAS et al., 2010)
Goma do angico	Complexação com oxovanadio	Atividade leishmanicida	(AMARAL et al., 2015)
Goma do angico carboximetilada	Quitosana e Tween-80	Encapsulamento do óleo essencial <i>Lippia sidoides</i>	(PAULA, 2017)
Goma do angico	Quitosana e PVA	Filme	(MELO et al., 2020)
Goma do angico quaternizada	-	Atividade antifúngica e anti-estafilococos da goma modificada	(DE SOUSA et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020)
Goma do angico	Goma do cajueiro acetilada ou goma do cajueiro modificada com anidrido propiônico	Produção de nanopartículas poliméricas para o encapsulamento de alendronato de sódio	(ILES et al., 2021)
Goma do angico Ftalada	-	Nanopartícula polimérica para o encapsulamento do fármaco nevirapina	(DE OLIVEIRA et al., 2021)

A goma do angico livre de modificações foi aplicada para produção de filme e complexos. Um filme polimérico foi produzido com goma do angico, quitosana e PVA pelo método de casting. Segundo o estudo, a formulação resultante apresentou propriedades mecânicas e capacidade de alongamento adequadas para um filme, além disso, o material foi descrito como biocompatível (MELO et al., 2020). A goma do angico também foi aplicada como parte da composição de um filme nanoestruturado para o desenvolvimento de um dispositivo eletrotécnico destinado a detecção de dopamina (EIRAS et al., 2010).

Um estudo demonstrou a capacidade de complexação de goma do angico com oxovanadio (AG-VO) e avaliou a atividade leishmanicida desse complexo. A concentração de 10 µg/mL do complexo AG-VO promoveu um aumento de 562% e 539% de IL-1β e IL-6, respectivamente. A mesma concentração estudada também reduziu o crescimento de 67% de

formas promastigotas de *L. amazonensis*. Segundo o autor, essas informações combinadas com o resultado de IC50 correspondente a 6.5 mg/mL, sugerem que o complexo pode ser promissor para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas contra leishmaniose (AMARAL et al., 2015).

Dentre os estudos sobre a goma do angico, o maior volume observado trata-se sobre sua aplicação em nanotecnologia. A goma do angico carboximetilada, por exemplo, foi extensivamente explorada para produção de nanopartículas por meio da formação de complexos polieletrólíticos com quitosana. Um primeiro estudo foi realizado para avaliar o potencial de formação do complexo polieletrólítico dos dois polímeros citados, já que um apresenta-se com carga positiva e o outro com carga negativa (OLIVEIRA et al., 2009a). Os trabalhos seguintes trataram de avaliar a incorporação do óleo essencial de *Lippia sidoides* com a nanopartícula contendo apenas quitosana (PAULA et al., 2010) e quitosana + tween 80 (PAULA et al., 2017) pelos métodos de emulsificação e spray drying. As formulações foram destinadas ao desenvolvimento de um dispositivo capaz de promover a liberação controlada do óleo essencial em estudo, que possui atividade contra larvas de *Aedes aegypti*. A nanopartícula mais promissora demonstrou eficiência de encapsulamento de até 77% do óleo essencial. Após 50 horas de estudo de liberação, foi visto que 78% do óleo essencial foi liberado e o estudo da atividade larvicida determinou 85% de mortalidade das larvas em 24h (PAULA et al., 2010).

Apesar de alguns trabalhos mostrando a aplicação da goma do angico para o desenvolvimento de nanopartículas, apenas em 2021 foram publicados os primeiros trabalhos que trataram do encapsulamento de fármacos. Um estudo avaliou a interação entre goma do angico com dois polímeros modificados (goma do cajueiro acetilada ou goma do cajueiro modificada com anidrido propiônico). Além disso o mesmo artigo avaliou a influência desses fatores na produção de nanopartículas poliméricas para o encapsulamento do fármaco alendronato de sódio (ILES et al., 2021).

Outro estudo produziu pela primeira vez a goma do angico ftalada e demonstrou que o biomaterial sozinho foi capaz de produzir nanopartículas estáveis por 3 meses e com uma eficiência de encapsulamento de 70% do fármaco nevirapina (DE OLIVEIRA et al., 2021).

6. Evidências científicas sobre a segurança da goma do angico e seus derivados

Como já foi mencionado anteriormente, os biopolímeros são de grande interesse para aplicações biomédicas e farmacêuticas. Para tais aplicações, é extremamente necessário que o

biopolímero seja compatível com o tecido humano, sangue e seus componentes, ou seja, mínima reação do organismo vivo após o contato com o biomaterial (JURAK et al., 2021).

No que se refere a goma do angico, uma determinada dose de goma foi administrada em ratos por via oral durante 14 dias. O estudo determinou que a goma do angico não promoveu alterações nas análises bioquímicas da função renal e do fígado. Além disso, análises histopatológicas do fígado, rim, coração, intestino e baço demonstraram que esta goma não provocou alterações visíveis (ARAÚJO et al., 2020).

Alguns estudos tiveram interesse particular em avaliar a hemocompatibilidade da goma do angico e seus derivados. Estudos hematológicos determinaram que tanto goma do angico quanto goma do angico quaternizada proporcionaram hemólise de aproximadamente 5% das células sanguíneas (DE SOUSA et al., 2020). Resultados semelhantes foram observados para nanopartículas de goma do angico ftalada (DE OLIVEIRA et al., 2021).

Com o objetivo de avaliar possíveis efeitos imunológicos, larvas do tipo *Galleria mellonella* foram tratadas por 7 dias com doses de 10mg/kg e 50mg/kg de goma do angico e seu derivado quaternizado. O experimento indicou que baixa toxicidade dos componentes em estudo, visto que existe uma correlação entre toxicidade contra larvas de *Galleria mellonella* e mamíferos (DE SOUSA et al., 2020).

7. Considerações finais

Já não é mais novidade que os cientistas de todo o mundo estão buscando atentamente por alternativas que possam substituir os polímeros sintéticos. Para tanto, o presente estudo teve como objetivo descrever as principais características da goma do angico. Além de demonstrar que o biopolímero que exsuda naturalmente do tronco da árvore pode ser um biomaterial promissor para diversas aplicações industriais, inclusive para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos.

5.2 ARTIGO 2: SÍNTESE ECOLÓGICA DE GOMA DO ANGICO FTALADA PARA ENGENHARIA DE NANOPARTÍCULAS USANDO ABORDAGEM DE *QUALITY BY DESIGN* POR DESIGN (QBD).

(artigo publicado na revista *International Journal of Biological Macromolecules*)

1. Introdução

Biopolímeros representam uma nova abordagem para a indústria alimentícia, cosmética, de dispositivos médicos e medicamentos (RIBEIRO et al., 2016). Dentre os diversos materiais estudados para o desenvolvimento farmacêutico, os biopolímeros são uma plataforma promissora devido à capacidade de promover a liberação controlada de fármacos e aumentar sua biodisponibilidade. Estudos científicos exemplificam o uso bem-sucedido de polissacarídeos em sistemas de entrega (DIAS et al., 2016; LIMA et al., 2018; VASCONCELOS SILVA et al., 2019).

A goma angico (AG) é um polissacarídeo derivado da exsudação do caule da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil.*, árvore popularmente conhecida como “angico vermelho”, abundante na região nordeste do Brasil. Classificada como uma arabinogalactana, é estruturada por uma cadeia principal de β -D-galactopiranosose (1 \rightarrow 3) que se conectam em outras cadeias laterais de constituição variada (DELGOBO et al., 1998, 1999). AG é um heteropolissacarídeo composto por aproximadamente 63-67% de arabinose, 20% de galactose, 10% de ácido glicurônico, e 6% de ramnose (DELGOBO et al., 1999; PAULA et al., 2010). AG é um biopolímero abundante na natureza, acessível, biodegradável e biocompatível (RIBEIRO et al., 2016). Por estas razões, é um biomaterial que pode ser amplamente aplicado em medicamentos.

Estudos anteriores exploraram AG devido à capacidade de formar filmes e géis (DE PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997), como adsorvente para metais pesados (OLIVEIRA, 2005), nanocompósito para sensores (EIRAS et al., 2007), para aplicações biotecnológicas (DE SOUSA et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020). Nanopartículas com AG e quitosana foram produzidas por complexação de polieletrólitos para encapsulação do óleo essencial de *Lippia sidoides*, indicando que este material é promissor para uso em sistemas de liberação (PAULA et al., 2010). No entanto, apesar de seu potencial como biomaterial sustentável para aplicação na indústria, o AG tem sido pouco explorado.

Além disso, o AG possui cadeias hidrofílicas, o que dificulta sua interação para o desenvolvimento de sistemas. Uma alternativa para contornar essas dificuldades é a

modificação química para obter um material com características desejadas (RIBEIRO et al., 2020). As modificações químicas podem alterar as características físico-químicas dos polissacarídeos naturais devido à inserção de um grupo específico em sua estrutura polimérica, como carboximetilação (OLIVEIRA et al., 2007), quaternização (RIBEIRO et al., 2020), acetilação (PITOMBEIRA et al., 2015), ftalação (OLIVEIRA et al., 2021) e outros.

A modificação com anidrido ftálico introduz em certas porções do polissacarídeo grupos hidrofóbicos por esterificação. A reação ocorre mais especificamente entre o grupo anidro e o grupo OH do polissacarídeo. Com isso, os polissacarídeos podem ser obtidos com caráter anfifílico; essa característica melhora a capacidade emulsificante e estabilizadora do novo material (SILVA et al., 2021; VIEIRA et al., 2010). Além disso, estudos descrevem que o polissacarídeo ftalado possui características diferentes dependendo do pH (OLIVEIRA et al., 2021). Nanopartículas de quitosana ftalada foram capazes de proteger o diclofenaco sódico em pH 2 e fornecer liberação controlada em pH 6,8 (AIEDEH; TAHA, 1999). Pelas características mencionadas, a modificação por ftalação é atrativa para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos.

Atualmente, a goma angico tem sido modificada apenas por carboximetilação e quaternização. A AG quatenizada apresentou atividades como antifúngica (RIBEIRO et al., 2020) e antibacteriana (DE SOUSA et al., 2020). A AG carboximetilada foi capaz de formar nanopartículas por complexação polieletrólítica com quitosana (OLIVEIRA et al., 2007, 2009a). Esse resultado mostra que o AG ainda é pouco explorado, apesar de ser um recurso natural com alto potencial industrial. Um desafio chave nesta tarefa é modificar a goma angico com anidrido ftálico e aplicar o derivado como uma matriz potencial para sistemas de liberação de drogas.

A nevirapina (NVP) é uma droga anti-retroviral que pertence à classe de inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeo e é amplamente utilizada para terapia anti-retroviral (DU et al., 2015; RIVAS; SANCHEZ-CORTES; GARCÍA-RAMOS, 2002). Além de causar uma série de efeitos adversos como granulocitopenia, eosinofilia, hepatotoxicidade, síndrome de Steve-Johnson, disfunção renal (KUO; CHUNG, 2011; VAN GRIENSVEN et al., 2010), esse medicamento também apresenta baixa solubilidade em água (VARSHOSAZ et al., 2018a). A nanotecnologia é uma estratégia relevante para sobrepor os problemas do fármaco NVP. Usamos o projeto de Plackett-Burman como análise estatística para determinar os fatores críticos para a produção de nanopartículas, tornando-o um estudo mais robusto.

Portanto, inicialmente, foi estudada a modificação da goma angico com anidrido ftálico e sua caracterização. Em seguida, foi realizada uma avaliação das variáveis que podem

influenciar no desenvolvimento das nanopartículas utilizando o delineamento estatístico de Plackett-Burman para a obtenção de uma nanopartícula otimizada. Nossos resultados suportam a hipótese de que a goma angico quimicamente modificada com anidrido ftálico pode formar sistemas nanoparticulados.

2. Experimental

2.1 Materiais

O exsudato de goma angico foi coletado de árvores angico (*Anadenanthera colubrina* var. *Cebil* (Griseb.)) Localizadas em Simplício Mendes, Piauí, Brasil. O anidrido ftálico foi adquirido na Sigma-Aldrich e a nevirapina foi doada na Farmanguinhos.

2.2 Preparação da goma angico ftalada (PAG)

A AG foi isolada e purificada conforme descrito por (SILVA; RODRIGUES; PAULA, 1998). A reação de modificação foi realizada de acordo com (OLIVEIRA et al., 2019) com modificações. O anidrido ftálico (PA) foi fundido a 130 ° C e, em seguida, AG foi adicionada (proporção 2: 1, PA: AG). A reação foi mantida sob agitação contínua por 20 min até a adição de 5 mL de N,N-Dimetilacetamida. O produto da reação, goma de angico ftalada (PAG), foi lavado sete vezes por centrifugação com água ultrapura para remoção dos resíduos e, em seguida, liofilizada.

2.3 Caracterização

Os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (^1H RMN) foram obtidos em um espectrômetro Agilent 400 MHz e 40 °C. A amostra de AG foi dissolvida em óxido de deutério (D_2O), e PAG foi dissolvida em DMSO deuterada. Os espectros foram analisados de utilizando o software Mnova12.04 (VASCONCELOS SILVA et al., 2019).

Espectros FTIR de AG e PAG foram obtidos entre 4.000 e 700 cm^{-1} utilizando o espectrômetro PerkinElmer® (Spectrum 400) com módulo de reflectância atenuada (ATR). Análises de termogravimetria/termogravimetria derivativa (TG/DTG) de AG e PAG foram obtidas utilizando uma termobalança Shimadzu modelo DTG-60H utilizando atmosfera de

nitrogênio (50 mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min e faixa de temperatura entre 25 e 500 °C. Análises de DRX foram obtidas utilizando um difratômetro Shimadzu XR-D600 numa faixa 2θ de 5° a 75°.

AG e PAG foram submetidos à análise de carbono e hidrogênio em analisador elementar Perkin-Elmer 2400 em atmosfera de oxigênio. A distribuição da massa molar foi determinada por cromatografia de permeação em gel usando Shimadzu LC-20AD com um detector de índice de refração (RID-10A). Foi utilizada coluna linear poly sep (300 x 7,8 mm) e NaNO₃(aq) 0,1 mol/L como eluente. A análise foi realizada a 30 °C, com fluxo de 1 mL/min e volume de injeção da amostra de 50 µL.

O ensaio de solubilidade foi realizado em água ultrapura e fluido gástrico simulado sem pepsina (USP 34). Um excesso de AG e PAG foram adicionados em 2 mL de solução e mantidos sob agitação (200 rpm) por 24 h a 28 °C. Samples were centrifuged for 30 min and 3.600 rpm and dried. As amostras foram centrifugadas por 30 min e 3.600 rpm e secas. A massa recuperada foi pesada. O coeficiente de solubilidade (S) foi calculado pela equação:

$$S = \frac{(m_i - m_r) \times 100}{m_i}$$

no qual m_i foi relacionado à massa inicial e m_r à massa recuperada.

2.4 Preparação das nanopartículas utilizando Plackett-Burman design

O planejamento experimental Plackett-Burman foi realizado com 6 fatores e 12 experimentos, utilizando o software STATISTICA 10 (Stat-Soft®, Dell Software, TX, USA). As variáveis independentes estudadas foram a quantidade de polímero (X_1), quantidade de fármaco (X_2), volume de fase aquosa (X_3), volume de fase orgânica (X_4), amplitude de sonicação (X_5), tempo de sonicação (X_6). Os parâmetros estudados foram escolhidos de acordo com avaliação prévia da literatura (CHAVES et al., 2017, 2018a). Após avaliação dos dados, os melhores parâmetros de produção das nanopartículas foram determinados utilizando os parâmetros de desejabilidade.

As nanopartículas foram preparadas seguindo o método de nanoprecipitação com algumas modificações (CHAVES et al., 2018a). As nanopartículas foram preparadas dissolvendo PAG (20 ou 40 mg) e o fármaco NVP (5 ou 10mg) em 2 ou 4 mL de uma mistura de solventes orgânicos Acetona: DMSO (1:1). Esta fase orgânica foi mantida sob agitação por 15 minutos, seguido pela adição de um volume específico de fase aquosa (5 ou 10 mL) e

subsequente sonicação por 1 ou 2 minutos. Após esse período, o volume foi ajustado para 20 mL da fase aquosa e mantido sob agitação magnética para evaporar completamente o solvente.

2.5 Caracterização de nanopartículas de PAG carregadas com NVP

2.5.1 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta

As análises de tamanho de partícula e potencial zeta foram realizadas por Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Panalytical Ltd.). A carga superficial foi determinada usando eletroforese laser Doppler. A distribuição do tamanho foi determinada por espalhamento dinâmico de luz (DLS), com um ângulo de incidência de 90° a 25 °C. Os experimentos foram realizados em triplicata.

2.5.2 Eficiência de encapsulamento (EE) e capacidade de carregamento (DL)

A quantificação de NVP dentro das nanopartículas de PAG foi realizada pela determinação do fármaco não aprisionado pelo método de ultracentrifugação. Primeiro, uma diluição de 1:20 de dispersão coloidal de NVP-PAG foi obtida em água ultrapura. As amostras foram ultracentrifugadas a 10.000 rpm por 40 min. A absorbância do sobrenadante foi determinada por espectroscopia UV-Vis (Varian Vankel 50 UV-Vis) a 283 nm. Curvas padrão foram obtidas de NVP em água ultrapura. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão (n = 4). EE e DL foram calculados como:

$$EE\% = \frac{\text{quantidade inicial de NVP} - \text{NVP recuperado}}{\text{quantidade inicial de NVP}} \times 100$$

$$DL\% = \frac{\text{quantidade inicial de NVP} - \text{NVP recuperado}}{\text{quantidade inicial de NVP} + \text{quantidade inicial de PAG}} \times 100$$

2.5.3 Análise morfológica da nanopartícula otimizada

A nanopartícula otimizada carregada com NVP e vazia foram submetidas à análise morfológica. As amostras foram diluídas em água ultrapura (1: 100) e depositadas em superfície de mica. Usamos microscopia de força atômica (equipamento TT-AFM, AFM Workshop,

EUA) para analisar a morfologia das nanopartículas. Foram utilizadas pontas TED PELLA (TAP300 - G10) com amplitude de frequência de 250 kHz.

2.5.4 Liberação *in vitro* de NVP da nanopartícula otimizada

O perfil de liberação *in vitro* de NVP foi determinado por difusão em membrana de diálise. Resumidamente, 5 mL de uma suspensão aquosa de nanopartículas foram colocados em um saco de diálise (14.000 Da) e incubados em 25mL de fluido gástrico simulado (pH 1,2) por 120 min. A seguir, a bolsa de diálise foi imersa em 25 mL de fluido intestinal simulado (pH 6,8) por 6 horas. As amostras foram coletadas em tempos pré-determinados (5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240 e 360 min) e analisadas por espectroscopia UV-Vis a 283 nm (pH 6,8), conforme descrito na Seção 2.4.3. O mesmo volume de fluido simulado foi repostado a cada coleta para manter a condição de sumidouro. O experimento foi realizado em quadruplicata.

2.5.5 Análise de hemocompatibilidade

Para investigar a biocompatibilidade das nanopartículas, realizamos um ensaio de hemocompatibilidade. Os glóbulos vermelhos humanos foram coletados em EDTA (1,8 mg / mL), nanopartículas PAG carregados com NVP e nanopartículas PAG vazia foram testadas nas concentrações 250,00, 125,00, 62,5, 31,25, 15,62, 7,80 e 3,90 µg/mL. Para os controles positivo e negativo, foi utilizado respectivamente Triton-X e solução salina. O experimento foi realizado conforme descrito por (KUO; CHUNG, 2011; VARSHOSAZ et al., 2018b), e as amostras foram analisadas na absorbância (A) de 492 nm. A% de hemólise foi calculada como:

$$\% \text{ Hemólise} = \frac{(A_{NPs} - A_{Salina})}{(A_{Triton} - A_{Salina})}$$

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização de PAG

Este trabalho revela a produção de um novo biomaterial obtido a partir da modificação química da goma angico (AG) pelo anidrido ftálico (PA). Modificamos o AG devido à grande quantidade de grupos hidroxila em sua estrutura.

A reação é uma esterificação entre os grupos hidroxila presentes nos monossacarídeos e o anidrido ftálico, promovendo a formação de grupos éster em posições aleatórias (Figura 1) (LUSTOSA et al., 2017). A primeira parte deste estudo visa comprovar que a reação de fato ocorreu. Nós caracterizamos o derivado extensivamente para mostrar mudanças nas características físico-químicas.

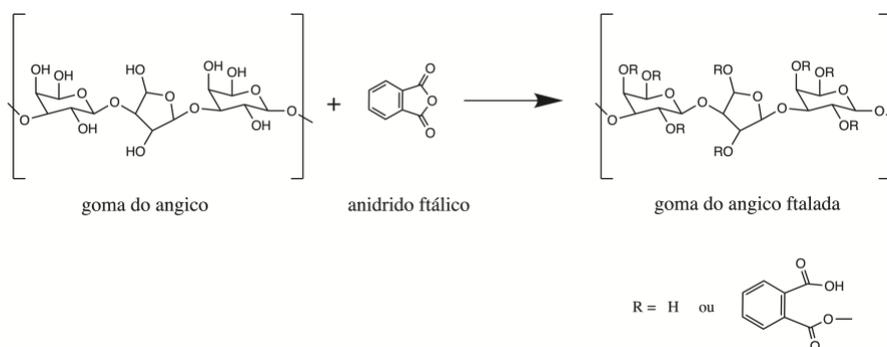


Figura 1 - Esquema simplificado de modificação da goma angico de ftalada (PAG).

O espectro RMN de AG (Figura 2) fornece informações sobre seus constituintes principais já relatados na literatura: arabinose, galactose, ramnose e ácido glucurônico (OLIVEIRA et al., 2007). Os prótons anoméricos (H-1) de α -arabinofuranose e α -ramnopiranosose mostram sinais entre 5,0 e 5,5 ppm. Sinais entre 3,3 e 4,5 ppm podem estar relacionados à sobreposição de H-3, H-4 e H-5 de galactose, arabinose e ramnose, respectivamente. O sinal em aproximadamente 1,35 ppm é relacionado aos prótons do grupo metil de ramnose. Características semelhantes são descritas anteriormente para AG (DELGOBO et al., 1998, 1999) e outros polissacarídeos com composição semelhante (LIMA et al., 2018).

Em relação ao espectro de RMN do PAG (Figura 2), destaca-se o aparecimento de sinais entre 7,5 e 8,0 ppm, comprovando que a modificação ftalada foi bem-sucedida. É uma região distinta de prótons ligados aos aromáticos relacionados à inserção do grupo ftalato nas unidades de polissacarídeo. A literatura relata resultados semelhantes de RMN para goma de caju ftalada (OLIVEIRA et al., 2019) e babaçu ftalado (WANG et al., 2017).

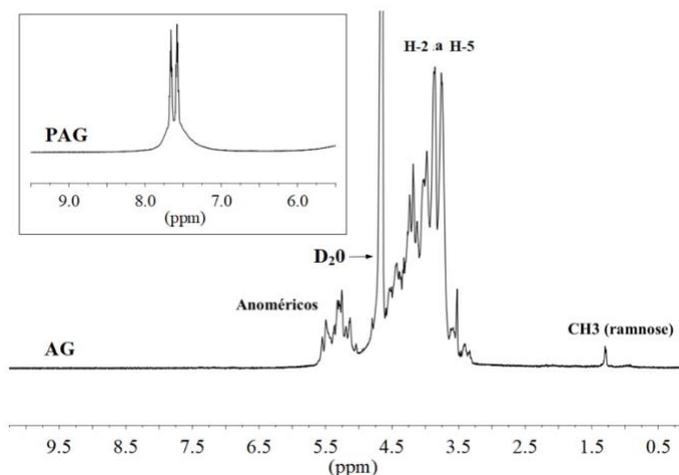


Figura 2 - Espectros de ^1H RMN de goma angico (AG) e goma angico ftalada (PAG).

O espectro FTIR de AG apresentou características semelhantes a literatura (DE SOUSA et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020). Em relação ao espectro FTIR de PAG (Figura 3), foi observado uma banda em 1279 cm^{-1} correspondente ao alongamento C-O. Também foi encontrado uma banda em 1702 cm^{-1} que é atribuída ao alongamento C=O. Além disso, as bandas em 2651 e 2523 cm^{-1} sugeriram um grupo éster de ácido carboxílico. Tais características também foram encontradas em outros trabalhos relacionados à modificação de polissacarídeos com anidridos ftálicos, como goma de caju (LUSTOSA et al., 2017), coco babaçu (VIEIRA et al., 2010), e quitosana (AIEDEH; TAHA, 1999). Comparando o espectro FTIR de AG com PAG, pode-se confirmar que a reação de modificação ocorreu de fato, na qual bandas características de inserção de ácido ftálico são observadas em algumas áreas do espectro. É possível sugerir que a modificação está relacionada à substituição do grupo hidroxila por ácido ftálico. Essa hipótese pode ser confirmada pela diminuição significativa das bandas de deformação axial dos grupos OH, assim como foi observado por outros autores (LUSTOSA et al., 2017).

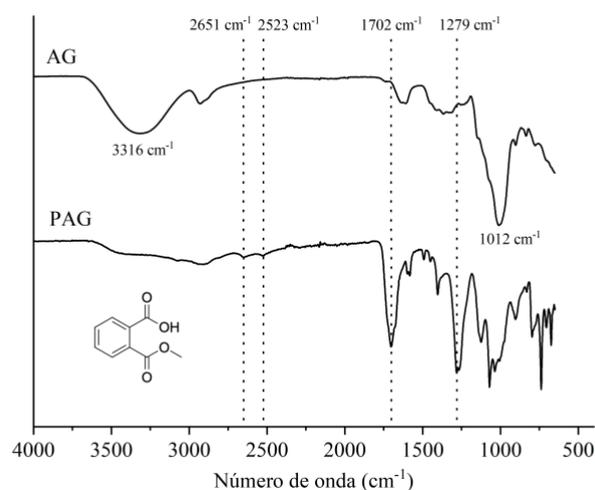


Figura 3 - Espectros de FTIR de goma angico (AG) e goma angico ftalada (PAG).

Os resultados da análise elementar mostraram que a relação C/H foi alterada de 0,4 para 0,9 para AG e PAG, respectivamente (Tabela 1). Portanto, a modificação da ftalação aumentou a razão C/H para PAG ao adicionar ácido ftálico ao longo das cadeias de polissacarídeos.

A massa molecular do AG (Tabela 1) foi consistente com os dados já apresentados na literatura (ARAÚJO et al., 2020; DE PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997). A PAG apresentou uma ligeira diminuição na massa molecular após o processo de modificação. O processo de aquecimento provoca esse comportamento a que a cadeia polimérica foi submetida durante a reação química, promovendo a quebra de algumas ligações químicas (OLIVEIRA et al., 2021). No entanto, essa característica não interferiu nas aplicações da goma. Diante do exposto, é possível verificar uma forte relação entre os resultados de RMN, FTIR e análise elementar. Esses resultados sugerem o sucesso da reação de ftalação para AG.

Tabela 1 - Análise elementar, massa molar e solubilidade de goma do angico (AG) goma do angico ftalada (PAG).

	Análise elementar				C/H	Massa molar (g/mol)	Solubilidade g/100g H ₂ O
	C (%)	H (%)	C (mmol/g)	H (mmol/g)			
AG	39.2	7.2	3.3	7.2	0.4	1.89×10^5	98.1 ± 0.2
PAG	51.8	4.6	4.3	4.6	0.9	1.94×10^3	14.4 ± 0.8

A Figura 4 (A) ilustra os resultados da análise de DRX AG e PAG. O difratograma de AG mostra um padrão amorfo; esta característica é semelhante a outras gomas, como a goma de caju (VASCONCELOS SILVA et al., 2019). que pode estar relacionado à incorporação do PA na cadeia do polissacarídeo. Além disso, o derivado tem uma linha de base diferente do PA e está relacionado à goma não modificada. Assim, PAG apresenta os picos de difração característicos de ambas as estruturas AG e PA. É visível que, apesar de apresentar essa semelhança dos picos de difração, observa-se que a modificação ocasionou uma mudança no padrão cristalino. Esse padrão pode estar relacionado à reorganização estrutural promovida pelo grupo ftalado.

Como mostrado na Figura 4 (B), PAG tem um perfil de decomposição diferente de ambos os materiais de partida. Essa diferença sugere que a modificação foi bem-sucedida.

O primeiro estágio de decomposição correspondeu à perda de água e ocorreu entre 26,5-107,8 °C e 26,5-102,2 °C para AG e PAG, respectivamente. AG apresentou perda de massa de 10,5%, enquanto para PAG foi de 4,7%. A redução do teor de umidade do derivado foi relacionada à perda de afinidade com a água, promovida pelo aumento da hidrofobicidade. O segundo estágio da decomposição de PAG é relacionado a quebra a ligação entre o grupo ftálico e as cadeias de polissacarídeos. O terceiro estágio da decomposição derivada correspondeu ao processo de decomposição AG. Esta característica indica que a estrutura de polissacarídeo primário permaneceu intacta.

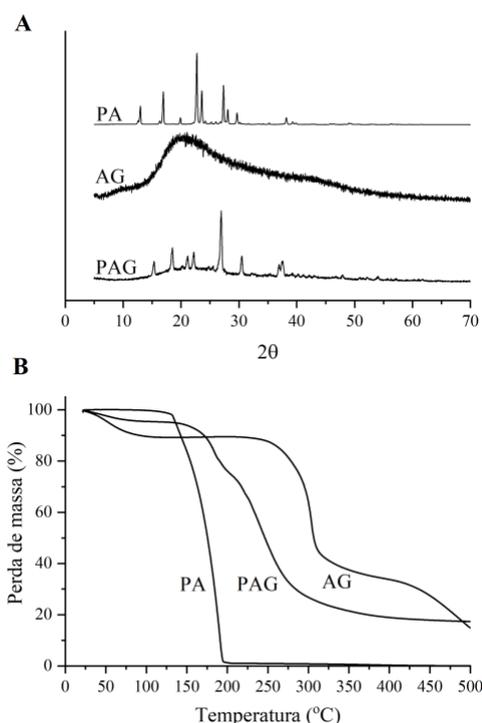


Figura 4 - Análises de DRX (A) e curvas termogravimétricas (B) de anidrido ftálico (PA), goma do angico (AG) e goma do angico ftalada (PAG).

A solubilidade em água do AG correspondeu a 98,17g/100g H₂O, e o PAG teve um coeficiente de solubilidade diminuído para 14,36g/100g H₂O (Tabela 1). Este comportamento indicou que a reação de ftalação promoveu uma diminuição na solubilidade em água do polissacarídeo devido aos grupos hidrofóbicos adicionados. Esses dados corroboram com a análise termogravimétrica, na qual AG foi menos higroscópica. Além disso, é relevante enfatizar a relação entre a alteração da solubilidade com o aumento da razão C/H para PAG. Ambas as características se devem à inserção do novo grupo na cadeia do biopolímero. A obtenção de um polímero hidrofóbico é extremamente relevante para o desenvolvimento de nanopartículas estáveis. A literatura relata diversas evidências de que a hidrofilização torna o biopolímero capaz de interagir com fármacos, promovendo seu transporte e liberação modificada em meio aquoso (LEE et al., 2012; LIMA et al., 2018).

Dadas todas as investigações apresentadas nesta primeira parte, podemos inferir que o processo de modificação de AG com anidrido ftálico foi concluído com sucesso. A modificação química na estrutura da goma angico proporcionou o desenvolvimento de um material hidrofóbico, biocompatível e biodegradável. A reação foi rápida, isenta de solventes orgânicos e economicamente viável. Como a literatura relata vários biopolímeros modificados, como a

goma de caju que foram eficazes para a aplicação de drogas em sistemas de distribuição (DIAS et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2021), é possível sugerir que PAG pode ser um material promissor para diversas aplicações, como a entrega de medicamentos em sistemas de entrega.

3.2 Planejamento de experimentos: nanopartículas de PAG contendo NVP

Nanopartículas contendo PAG e o fármaco nevirapina foram desenvolvidas por nanoprecipitação. Esse método foi utilizado pois a literatura o reporta como relevante para a produção de nanopartículas a partir de polímeros hidrofóbicos, além de ser facilmente escalonável (BABADI et al., 2021; CRUCHO; BARROS, 2017).

Além disso, o projeto *Plackett-Burman* é uma estratégia de varredura que pode identificar os fatores críticos para a produção de nanopartículas. Além disso, um pequeno número de experimentos é necessário para fornecer uma grande quantidade de dados. Tais informações são ainda comprovadas por meio de análises estatísticas, tornando-se um estudo mais robusto (PARK et al., 2013). Os fatores analisados neste estudo foram quantidade de polímero (x_1), quantidade de NVP (x_2), volume e fase aquosa (x_3), volume de fase orgânica (x_4), amplitude de sonicação (x_5) e tempo de sonicação (x_6). Os resultados de cada lote de nanopartículas de PAG contendo NVP são observados na Tabela 2.

Tabela 2 - Variáveis independentes por amostra e respostas observadas do planejamento de experimentos *Plackett-Burman* de nanopartículas de PAG contendo NVP.

	Variáveis independentes						Variáveis dependentes				
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄ :	X ₅	X ₆	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅
F1	40	5	10	2	50	1	236.8	0.119	-14.9	57.07	6.57
F2	40	10	5	4	50	1	335.1	0.188	-13.1	67.18	13.59
F3	20	10	10	2	80	1	169.7	0.206	-16.3	70.09	22.91
F4	40	5	10	4	50	2	279.1	0.188	-14.0	56.08	6.56
F5	40	10	5	4	80	1	314.8	0.179	-14.5	65.86	13.30
F6	40	10	10	2	80	2	300.5	0.123	-17.0	66.35	13.89
F7	20	10	10	4	50	2	209.7	0.225	-18.5	71.77	24.84
F8	20	5	10	4	80	1	216.3	0.254	-16.9	65.83	13.94
F9	20	5	5	4	80	2	191.1	0.166	-20.2	63.85	13.32
F10	40	5	5	2	80	2	364.8	0.170	-17.7	57.12	6.97
F11	20	10	5	2	50	2	251.0	0.157	-21.8	70.72	23.75
F12	20	5	5	2	50	1	231.9	0.152	-19.8	66.92	13.85

X₁: quantidade de PAG, X₂: quantidade de NVP, X₃: volume de fase aquosa, X₄: volume de fase orgânica, X₅: amplitude de sonicação, X₆: tempo de sonicação, Y₁: Tamanho de partícula, Y₂: PDI, Y₃: potencial zeta, Y₄: EE, Y₅: DL.

Os resultados do planejamento de experimentos Plackett-Burman são mostrados como um gráfico de Pareto padronizado (Figura 5). Os gráficos mostram os valores de p das variáveis independentes, que foram considerados como tendo efeito significativo quando os valores eram <0,05, com 95% de confiança. O sinal positivo ou negativo indica efeitos sinérgicos e antagônicos, respectivamente (CHAVES et al., 2017). Em relação ao desenvolvimento de nanopartículas com PAG para encapsulamento de NVP, as variáveis independentes que se mostraram estatisticamente significativas foram: tamanho de partícula, potencial zeta, EE e DL (Figura 5).

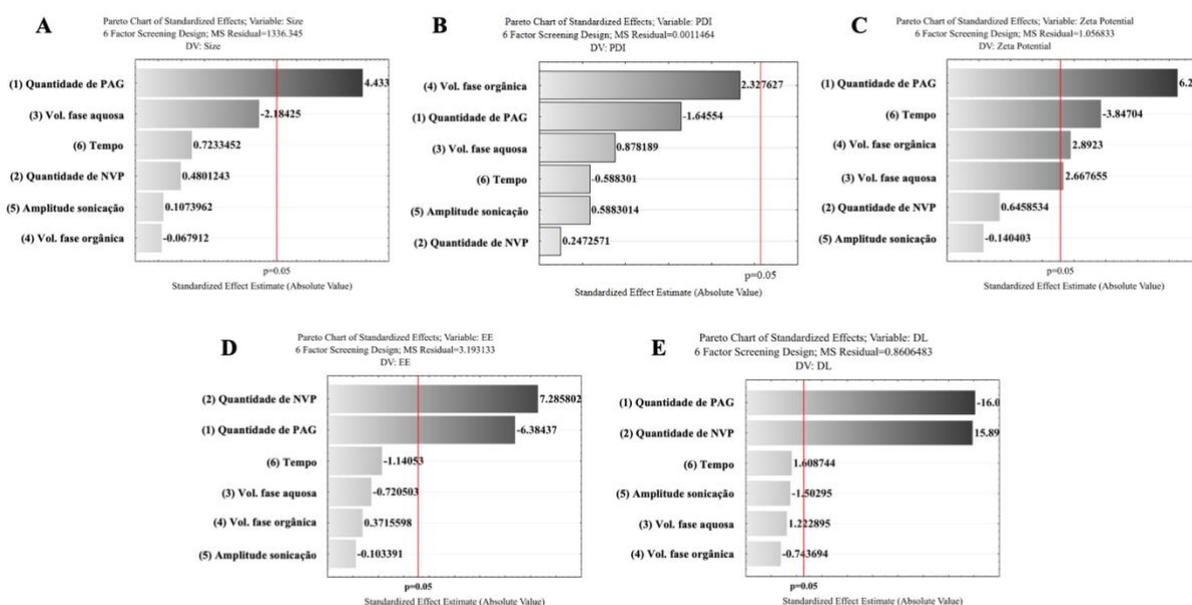


Figura 5 - Gráficos de Pareto mostrando a significância das variáveis (A) tamanho de partícula, (B) PDI, (C) potencial Zeta, (D) eficiência de encapsulação e (D) *drug loading*. Os efeitos foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$, nível de confiança de 95%.

O tamanho de partícula das formulações variou de 169,7 nm (F3) a 364,8 nm (F10) (Tabela 2). Dentre todas as variáveis estudadas, apenas a quantidade de PAG foi estatisticamente significativa para o tamanho das nanopartículas. O sinal positivo indicou que uma diminuição na quantidade de PAG promoveu uma diminuição no tamanho das nanopartículas. Esse efeito pode ser explicado pela formação de gotículas menores em formulações com menores quantidades de PAG no mesmo volume de solvente (SUKHBIR; YASHPAL; SANDEEP, 2016). O tamanho das nanopartículas é um parâmetro que influencia diversos fatores fisiológicos como distribuição e metabolismo. A literatura relata que um tamanho maior que 200 nm aumenta a opsonização das nanopartículas pelos macrófagos (JINDAL, 2017).

O potencial zeta é uma técnica que determina a carga das partículas e um parâmetro que pode indicar a estabilidade física de sistemas coloidais (VARSHOSAZ et al., 2018a). O potencial zeta das formulações variou de -13,1 (F2) a -21,8 (F11), e a variável estatisticamente significativa foi a quantidade de polímero (X_1), tempo de sonicação (X_6), volume de fase orgânica (X_4), e volume de fase aquosa (X_3). Em relação à variável quantidade de polímero, observamos que quanto menor a quantidade de polímero, mais negativa se torna a superfície das nanopartículas. Isso pode estar relacionado à viscosidade do polímero em um determinado

volume de fase orgânica. Assim, uma quantidade menor de polímero proporciona a formação mais fácil de partículas com tamanho menor e, assim, tornam-se mais estáveis (CHAVES et al., 2017). Além disso, foi evidenciado que um tempo de sonicação mais longo produziu uma formulação com um potencial zeta mais negativo. Acreditamos que a transferência de energia do processo de sonicação de formação de nanopartículas pode promover nanopartículas mais estáveis (CRUCHO; BARROS, 2017). Em relação ao volume da fase orgânica (X_4), constatou-se que um nível menor afetou a formação das nanopartículas com potencial zeta mais negativo e próximo a -30. Em relação ao volume variável da fase aquosa (X_3), observamos que um menor volume da fase aquosa produziu nanopartículas com potencial zeta próximo a -30.

A EE das formulações (Y_4) variou de 56,08 (F4) a 71,77 (F7). As variáveis estatisticamente significativas foram quantidade de NVP (X_2) e quantidade de polímero (X_1). O efeito positivo observado no EE relacionado à quantidade de NVP pode ser justificado pela fácil interação entre nevirapina e PAG, na qual há uma formação mais significativa de partículas durante o processo de sonicação (HOSNY et al., 2017). No entanto, uma relação antagonista entre EE e a quantidade de PAG indicou que uma menor quantidade de PAG contribuiu para o aumento do encapsulamento da droga. Esse fenômeno pode ser explicado porque provavelmente, após uma proporção específica, o PAG tem mais afinidade consigo mesmo do que com a droga e, então, tem dificuldade em aprisionar a droga. Resultados semelhantes foram observados na literatura para outras nanopartículas baseadas em biopolímeros (RAWAL; PATEL; BUTANI, 2018). A menor quantidade de PAG também pode ser devido à alta viscosidade no meio durante a agitação promovida pelos altos níveis de PAG que proporciona dificuldade na formação de gotículas termodinamicamente estáveis (CHAVES et al., 2017).

O DL das formulações variou de 6,56 (F4) a 24,84 (F7). Conforme observado a partir de EE, a quantidade de PAG (Y_1) e a quantidade de NVP (Y_2) foram as variáveis estatisticamente significativas. A influência desses fatores pode ser pelas mesmas razões discutidas anteriormente por EE.

Plackett-Burman é uma estratégia conhecida como “*Quality by Design*”. Este desenho permite mostrar que nanopartículas podem ser construídas com diferentes características de acordo com um objetivo específico (WAGHULE et al., 2021). A PAG apresenta-se como um biopolímero capaz de formar nanopartículas com as mais variadas características e, consequentemente, diversas aplicações farmacêuticas.

Às vezes, em formulações de nanopartículas, é necessário adicionar alguns componentes capazes de melhorar a estabilidade (CHAVES et al., 2017, 2018b). Notavelmente, nenhuma das 12 formulações usou materiais estabilizantes porque o PAG já agia como um

surfactante. Essa característica do PAG foi capaz de produzir nanopartículas com baixo índice de polidispersão e alta interação com um fármaco com baixa solubilidade em água.

Para demonstrar a produção de nanopartículas por via oral do fármaco NVP, fármaco com baixa solubilidade em água, aplicamos os parâmetros estatísticos de desejabilidade para obter uma nanopartícula com maior eficiência de encapsulação do fármaco. E então, avaliamos as características da nanopartícula otimizada.

3.3 Nanopartículas de PAG carregadas com NVP otimizadas de acordo com perfis para valores previstos e desejabilidade

Depois de avaliar as variáveis que influenciaram vários fatores no desenvolvimento de nanopartículas com Plackett-Burman Design, optamos por selecionar apenas EE e DL para aplicar aos parâmetros de desejabilidade. As nanopartículas foram otimizadas para obter o máximo de encapsulamento de fármaco disponível capaz de interagir com o polímero (BAGHAEI et al., 2020). O lote selecionado de nanopartículas de PAG contendo NVP selecionadas foi obtido com 20 mg de PAG (x_1), 10 mg de NVP (x_2), 10 mL de volume de fase aquosa (x_3), 2 mL de volume de fase orgânica (x_4), 50 de amplitude de sonicação (x_5) e 2 min de tempo de sonicação (x_6).

A formulação otimizada apresentou um tamanho de partícula de $202,1 \pm 1,6$ nm, potencial zeta de $-17,1 \pm 0,23$, PDI de 0,211, EE de $69,85 \pm 0,5$ % e DL de $23,01 \pm 0,5$ (Tabela 3). Os parâmetros da formulação como tamanho, PDI e potencial zeta foram monitorados por 75 dias. Os resultados não mostraram alterações estatisticamente significativas durante este tempo (Figura 6). A formulação com nanopartículas vazias apresentou tamanho de partícula de 215,3 nm, PDI de 0,244 e potencial zeta de -15,5 mW. A diferença entre a formulação vazia e carregada com NVP pode indicar que a nevirapina está interagindo com o PAG por meio de interações eletrostáticas. Assim, as nanopartículas de carregamento de NVP podem se tornar mais compactas e termodinamicamente estáveis (STIPA et al., 2021).

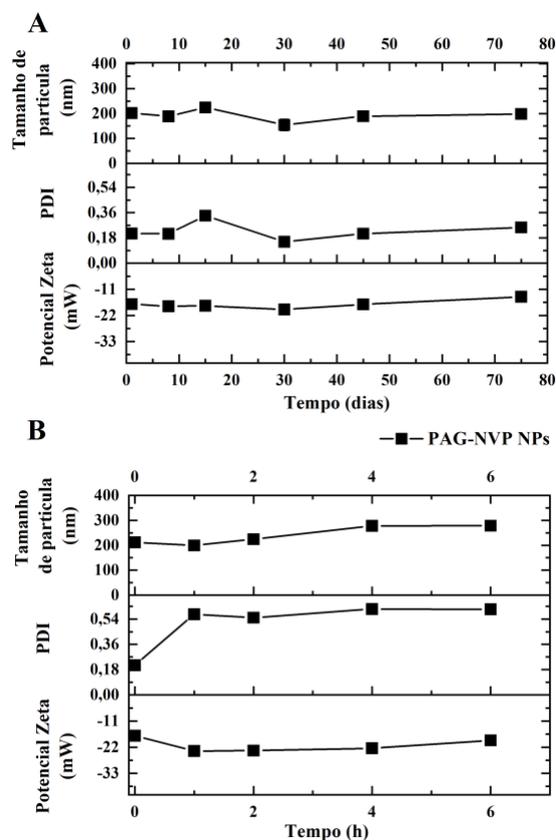


Figura 6 - Parâmetros da formulação otimizada como tamanho, PDI e potencial zeta foram monitorados por 75 dias (A) e em pH 6.8 por 6 horas (B).

Tabela 3 - Valores preditos x valores observados de nanopartícula otimizada NVP-PAG NPs (nanopartículas produzidas com PAG contendo NVP).

	NVP-PAG NPs		PAG NPs (vazia)
	Preditos	Observados	
Tamanho de partícula (nm)	200,85	202,1 ± 1,6	215,3
PDI	0,1700	0,211 ± 0,0	0,244
Potencial zeta (mV)	-19,8917	-17,1 ± 0,23	-15,5
EE (%)	70,85	69,85 ± 0,5	-
DL	24,38	23,01 ± 0,5	-

Também observamos que as nanopartículas de carregamento de NVP otimizadas tinham características esféricas e eram ligeiramente menores em tamanho do que o determinado por DLS (Figura 7). Esse comportamento pode estar relacionado ao processo de secagem em que

as nanopartículas foram submetidas ao teste de AFM, enquanto o teste DLS mediu o tamanho hidrodinâmico das nanopartículas em meio líquido. A formulação vazia apresentou-se diferente das PAG NPs carregadas com NVP, o que também comprova a possível interação entre NVP e PAG, promovendo sucesso no encapsulamento do fármaco.

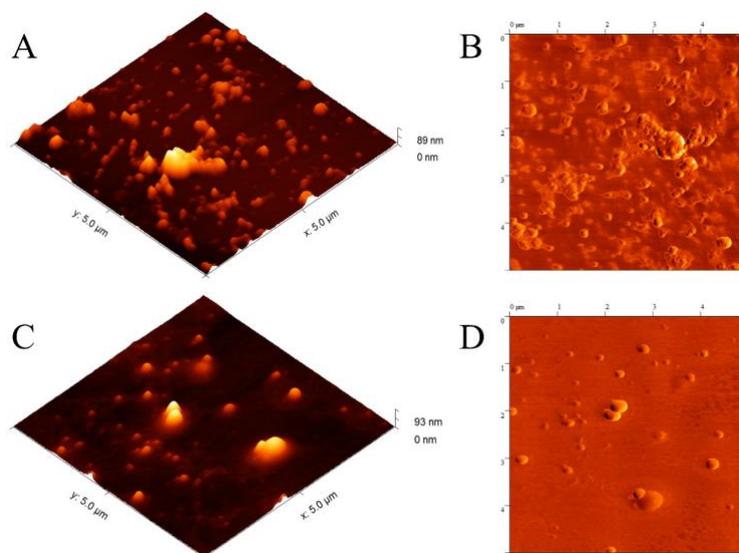


Figura 7 - AFM de: (PAG NPs vazio): imagem 3D - $5 \times 5 \mu\text{m}$ (A) e imagem 2D - FASE Z - $5 \times 5 \mu\text{m}$ (B); (NVP-PAG NPs): imagem 3D - $5 \times 5 \mu\text{m}$ (C), imagem 2D - FASE Z - $5 \times 5 \mu\text{m}$ (D). Imagens com resolução de 512×512 pixels.

Sobre o perfil de liberação *in vitro* das nanopartículas de PAG carregadas com NVP e a droga livre em um meio intestinal simulado, pH 6,8 (Figura 8). Até 1 h das nanopartículas de PAG carregadas com NVP e NVP livre mostraram uma porcentagem semelhante de fármaco liberado, $17,4 \pm 1,6 \%$ e $21,8 \pm 3,7 \%$. Esse comportamento pode estar relacionado à quantidade de fármaco contida na superfície das nanopartículas. O fármaco livre manteve um prolongado aumento de dissolução a partir desse momento, atingindo no máximo $39,4 \pm 1,9\%$ em 8h de experimento. Enquanto a formulação mostrou um aumento gradual na liberação do medicamento atingindo $83,7 \pm 7,7\%$ em 8 h. Comparando o perfil de liberação do fármaco encapsulado e livre, é visível que a nanopartícula promoveu um aumento na taxa de liberação do fármaco. Como a NVP tem baixa solubilidade em água, esse resultado é relevante, pois indica que a nanopartícula aumentou na biodisponibilidade do fármaco (LEÃO et al., 2019).

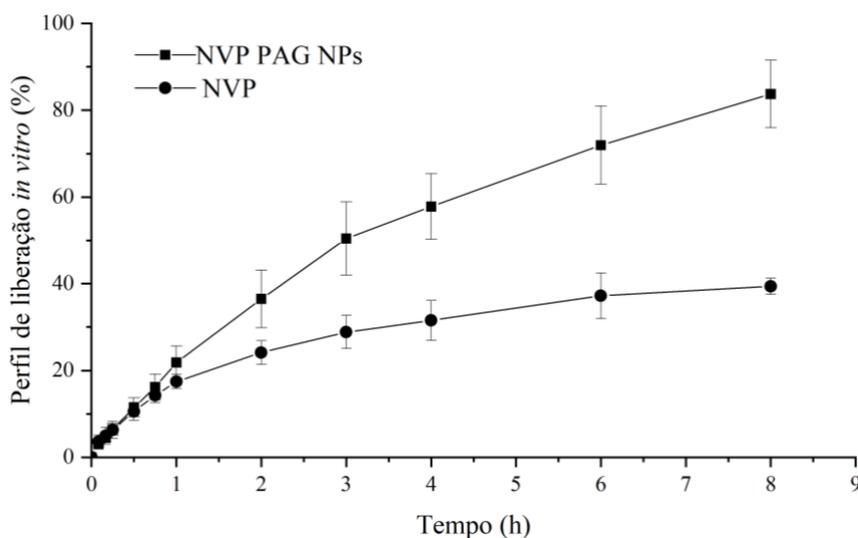


Figura 8 – Perfil de liberação in vitro da formulação contendo nanopartículas produzida com goma do angico ftalada para o encapsulamento de nevirapina (NVP-PAG NPs) e nevirapina (NVP).

Também é importante notar que o perfil de liberação in vitro da formulação indica que, como a nevirapina é misturada na cadeia PAG polimérica, isso gerou uma mudança do estado cristalino para o amorfo. Esta característica favoreceu a formação de interações eletrostáticas entre ambos e possivelmente promoveu uma liberação pelo mecanismo de difusão (BABADI et al., 2021).

4. Conclusão

Em conclusão, a goma angico foi modificada por ftalação com sucesso a partir de um processo que não requer solventes orgânicos tóxicos. A PAG apresentou características hidrofóbicas e como um material semicristalino. Também foram produzidas nanopartículas de PAG usando o design de experimentos Plackett-Burman para determinação dos diversos parâmetros de produção, e a influência dos fatores foi avaliada. PAG provou ser um material versátil para a produção de nanopartículas com diferentes tamanhos, PDI e características de potencial zeta. A característica anfifílica de PAG significou uma capacidade adequada como estabilizador em formulações. Nanopartículas otimizadas a partir de parâmetros de desejabilidade foram produzidas e suas características foram determinadas. A formulação de nanopartículas de PAG carregadas com NVP mostrou $202,1 \pm 1,6$ nm de tamanho de partícula, $69,8 \pm 0,5\%$ de EE, resultando na liberação modificada do fármaco por 8 h. Diante do exposto,

podemos concluir que os PAG podem formar sistemas nanoparticulados e, além disso, são um material promissor para o encapsulamento de fármacos. Este estudo evidenciou uma aplicação inovadora para um material que ainda apresenta baixo índice de exploração pela indústria farmacêutica.

5.3 ARTIGO 3: NANOPARTICULAS DE GOMA DO ANGICO FTALADA EM MICROAGULHAS PARA APLICAÇÃO EM SISTEMA DE LIBERAÇÃO TRANSDÉRMICO

1. Introdução

Sistemas de liberação transdérmicos são significativos para promover a entrega de fármacos à circulação sistêmica. Esta via possui vantagens em relação à via oral. Pois é capaz de evitar metabolismo de primeira passagem e degradação intestinal, por exemplo. Dessa forma, sistemas transdérmicos podem necessitar de uma menor quantidade de fármaco para atingir concentrações terapêuticas e, conseqüentemente, pode impactar na diminuição de toxicidade (SABBAGH; KIM, 2022).

Dentre os diversos sistemas de liberação transdérmicos disponíveis, as microagulhas ganharam destaque por melhorar o desempenho transdérmico. As microagulhas apresentam-se como uma forma de fácil administração e indolor por parte do paciente (SWAIN; PRATAP SINGH; YADAV, 2021). Este dispositivo pode promover micro rupturas do estrato córneo, principal barreira da via transdérmica. Assim, dependendo das características, o fármaco pode seguir para a circulação sistêmica (DATHATHRI et al., 2020).

Uma estratégia promissora que surgiu nos últimos anos trata-se de combinar nanopartículas com microagulhas e, assim, construir um sistema de entrega capaz de promover uma liberação controlada de fármacos. Essas características podem gerar grande comodidade para o paciente: facilitar a autoadministração e promover menor frequência de administração (SULLY et al., 2021).

Levando em consideração os materiais que constituem as microagulhas, há a necessidade de buscar soluções de baixo custo e não tóxicos. A goma de angico, por exemplo, é um polissacarídeo biodegradável cuja matéria-prima é abundante na flora brasileira cuja utilização ainda é negligenciada. Em um trabalho anterior, nosso grupo de pesquisa promoveu a modificação química da goma de angico e mostrou que a goma de angico ftalada pode formar nanopartículas de forma eficiente (DE OLIVEIRA et al., 2021). Na tentativa de aprimorar ainda mais o tratamento antirretroviral, neste trabalho buscamos estudar a influência da incorporação de nanopartículas de goma de angico contendo nevirapina em microagulhas e avaliar o efeito transdérmico deste dispositivo.

A nevirapina é um fármaco antirretroviral que pode causar uma série de efeitos adversos como granulocitopenia, eosinofilia, hepatotoxicidade, síndrome de Steve-Johnson, disfunção

renal (KUO; CHUNG, 2011; VAN GRIENSVEN et al., 2010). O HIV é uma doença que acomete aproximadamente 38 milhões de pessoas (UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. UNAIDS, 2021), cujo tratamento necessário para diminuir a carga viral depende de uma terapia complexa. Portanto, para alcançar uma eficácia clínica adequada, é necessário adesão ao tratamento (DUBEY et al., 2010).

No que se refere a produção das microagulhas propostas nesse trabalho, a fim de manter a estratégia de utilizar materiais de origem natural, a quitosana foi escolhida como matéria-prima para o desenvolvimento das microagulhas, visto que, alguns artigos publicados anteriormente demonstraram as vantagens de se utilizar este biomaterial na produção de desses dispositivos (GORANTLA et al., 2021). Além disso, por se tratar de um biopolímero de carga positiva, poderia ser efetivo para interação com a nanopartícula de goma do angico.

O presente artigo, portanto, tem como objetivo incorporar a nanopartícula contendo goma do angico ftalada e o fármaco antiretroviral Nevirapina em microagulhas e avaliar sua influência na liberação do fármaco nevirapina. Visando uma melhor maior incorporação de fármaco no dispositivo, este trabalho também teve como objetivo avaliar a influência de se incorporar as nanopartículas como nanosuspensão e como nanopartícula liofilizada nas microagulhas.

2. Material e métodos

2.1 Produção da nanopartícula de goma do angico ftalada (NP)

A nanosuspensão contendo goma do angico ftalada e NVP (NP) foi produzida de acordo com o trabalho publicado anteriormente (DE OLIVEIRA et al., 2021). Nanopartículas vazias (PAG-NP) foram obtidas como controle, seguindo o mesmo protocolo. As nanosuspensões (NPns) carregadas com NVP e não carregadas foram submetidas ao processo de liofilização (NPfd) até completa remoção de líquidos e armazenada em condições adequadas para impedir o ganho de umidade.

2.2 Produção de microagulhas para incorporação das nanopartículas

Para o desenvolvimento das microagulhas, foi produzido primeiramente um hidrogel contendo quitosana e polivinilpirrolidona na proporção 5/3. Os polímeros foram pesados,

misturados com ácido acético 1% e mantidos sob agitação até a obtenção de uma formulação homogênea.

As microagulhas foram obtidas pelo método de micromoldagem com molde de siloxano (Micropoint Technologies, Singapura). Os moldes possuem formato quadrado com matriz 10x10, possuindo um total de 100 agulhas. Cada agulha do molde é caracterizada por uma base piramidal de 200 µm de diâmetro e altura de 800 µm.

Na primeira etapa, 100 mg do hidrogel foi adicionado ao molde e mantido em câmara conectado com bomba de vácuo por 30 min para remoção das bolhas. Em seguida, o molde foi centrifugado por 60 minutos a 3500 rpm. Essa etapa foi repetida mais uma vez e mantida em ambiente com temperatura controlada por 24 h. Após esse período, a formulação foi seca em câmara de secagem por 3 horas, em temperatura controlada a 25°C (Incubadora Shaker ES-60, Miulab, Hnagzhou, Zhejiang, China). Após o período, a microagulha foi retirada do molde e mantida em ambiente com temperatura controlada para ser analisada.

Foram produzidas microagulhas com incorporação de nanopartículas líquidas ou nanosuspensão (MN-NPns), com nanopartículas liofilizadas (MN-NPfd e microagulhas contendo apenas CH-PVP (MN-vazio).

2.3 Caracterização das microagulhas contendo Nanopartículas de goma do angico fialada

2.3.1 Análise da composição química

Para avaliar a influência da composição química da formulação, as microagulhas e os componentes individuais foram analisados por espectroscopia de transformada de Fourier. Os espectros foram obtidos entre 4.000 e 700 cm⁻¹ utilizando o espectrômetro PerkinElmer® (Spectrum 400) com módulo de reflectância atenuada (ATR).

2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

As microagulhas foram analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura utilizando o equipamento FEI Quanta 400 FEG ESEM/EDAX Pegasus X4M contendo um acelerador de voltagem para adquirir imagens com alta resolução. Com auxílio de uma fita dupla de carbono, as microagulhas foram aderidas em pinos de metal e submetidas a duplo recobrimento com ouro/paládio para aumentar a condutividade da superfície. As análises foram

realizadas em parceria com o Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varrimento e Microanálise por Raios X do Centro de Estudos de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP-UP).

2.3.3 Análise das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das microagulhas foram determinadas utilizando-se o analisador de textura TA.XT2 (Stable Micro Systems Ltd., Haslemere, UK). Para realização do ensaio, uma sonda de metal com diâmetro de 2 mm moveu-se em direção a uma base de ácido inoxidável ao qual a microagulha se encontrava. A velocidade da sonda foi de 0,01 mm/s e, para cada microagulha foram feitas 5 leituras. O ensaio foi realizado com três microagulhas.

2.3.4 Efeito da inserção das microagulhas em parafilm®

Para avaliar a capacidade microagulhas promoverem a microrupturas na pele, foi realizado um estudo como proposto por (LARRAÑETA et al., 2014). O estudo propõe utilizar camadas de parafilm® ao invés de pele para avaliar o nível ao qual as microagulhas são capazes de atingir. Para realização do experimento, foram sobrepostas 8 camadas de parafilm (cada camada equivale a $126 \pm 7 \mu\text{m}$) a microagulha é aplicada com uma força padronizada pelo tempo de 30 segundos. Em seguida, foi avaliado a quantidade de camadas perfuradas e quantidade de furos produzidos em cada camada.

2.3.5 Ensaio de permeação

O ensaio de permeação das microagulhas contendo nanopartículas foi realizado em célula de difusão de franz. O modelo de pele utilizado para o estudo consistiu em membrana de orelha de porco. Em cada célula de difusão de franz, as microagulhas foram aplicadas na pele que se encontrava no compartimento doador utilizando-se uma força padrão para promover sua inserção na pele. O compartimento receptor foi preenchido com 4,7 mL de solução tampão pH 7.4 suplementada com dodecil sulfato de sódio e azida de sódio 0,1%. O ensaio foi realizado em triplicata e teve uma duração de 72 horas. Para avaliação do perfil de permeação do fármaco, foram realizadas coletas de amostras do compartimento receptor nos tempos: 0, 2, 4, 8, 10, 24, 34, 48, 60 e 72h.

A quantificação do fármaco NVP foi realizada por meio de análise em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As análises foram realizadas utilizando-se um sistema HPLC com as seguintes configurações: injetor PU-4180, coletor de amostras AS-4050 e controlador LC-Net II/ADC acoplado a um detector PDA (JascoMD-4010). A coluna utilizada foi do tipo monolítica de fase reversa (Chromolith®RP-18e, 100mm × 4.6mm i.d., Merck). A quantificação de NVP manteve-se de acordo com um método previamente validado (HAMRAPURKAR et al., 2010). A fase móvel foi composta por solução tampão de fosfato de potássio (KH₂PO₄) 15 mM e acetonitrila na proporção 65:35 e com ajuste de pH para 3,5. A taxa de fluxo do sistema consistiu em 1 mL/min.

Os cromatogramas foram adquiridos a partir de análises de 7 minutos e utilizando-se o comprimento de onda de 283 nm. O tempo de retenção característico do fármaco NVP consistiu entre 5.4 e 5.6. Uma solução estoque de NVP 100 µg/mL foi produzida para construir a curva de calibração contendo oito soluções de concentrações diferentes (0,5 a 40,0 µg/mL).

2.3.6 Ensaios histológicos

Para dar seguimento a este estudo, foi produzido o hidrogel com adição de rodamina 0,1% e microagulhas como citado na sessão 2.2. Para avaliação histológica da orelha de porco foi realizado ensaio de permeação das microagulhas coradas como determinado na seção anterior. No entanto, o ensaio foi parado, as microagulhas foram removidas e a pele foi submersa em formol para preservação da pele até que o momento no qual seriam realizados os cortes histológicos. As amostras de pele foram estudadas nos tempos 1h, 3h e 24 h de ensaio de permeação. O corte histológico da pele foi realizado em parceria com técnicos do departamento de histologia da Faculdade de Farmácia/ ICBAS da Universidade do Porto. As amostras foram analisadas em Microscópio de fluorescência confocal em parceria com o Centro de Estudos e Materiais da Universidade do Porto (CEMUP-UP). As imagens foram capturadas em um microscópio confocal Leica Stellaris 8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) equipado com o pacote Leica Application Suite X (LAS X). As imagens foram adquiridas com resolução de 1024×1024 usando objetiva 10X/0,4 e processadas no software ImageJ (aplicativo Fiji, versão ImageJ2, disponível gratuitamente em <http://imagej.net/>).

2.4 Análise estatística

Análises estatísticas foram delineadas com o software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA). Análises One-way ANOVA foram realizadas para avaliar os resultados de textura, análise two-way ANOVA foram realizadas para avaliar as diferenças entre as formulações no ensaio de permeação. Todos os resultados foram expressos como média±desvio padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização de NPfd e NPns

Durante o processo de obtenção e incorporação das nanopartículas nas MN, foi observado que o dispositivo suportaria um volume limite de nanosuspensão, o que, possivelmente levaria a uma capacidade baixa de carregamento do fármaco. Dessa forma, optou-se por liofilizar a nanosuspensão a fim de tentar atingir uma concentração maior de NVP no dispositivo.

A fim de avaliar a morfologia e as características das nanopartículas antes e depois da liofilização, foram realizados os ensaios de tamanho, PDI e microscopia. NPns apresentou tamanho de $218,0 \pm 1,9$ nm e PDI de $0,242 \pm 0,017$. Após a liofilização, NPfd apresentou tamanho médio de $1233,3 \pm 39,2$ nm e PDI de $0,358 \pm 0,009$. Essas características demonstram que o processo de resuspensão ainda não foi suficientemente eficaz em promover a separação das nanopartículas que se aglomeraram devidos ao processo de liofilização. Para melhor avaliação, NPfd foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (Figura 1-A). Como pode ser visto na imagem, NPfd apresentou uma certa agregação, no entanto, este é um efeito natural após o processo de secagem por liofilização livre de crioprotetor (ATAÍDE et al., 2021). Além disso, estas partículas apresentaram baixa variabilidade de tamanho. A partir da imagem, também é possível verificar que as nanopartículas se constituem em um formato achatado.

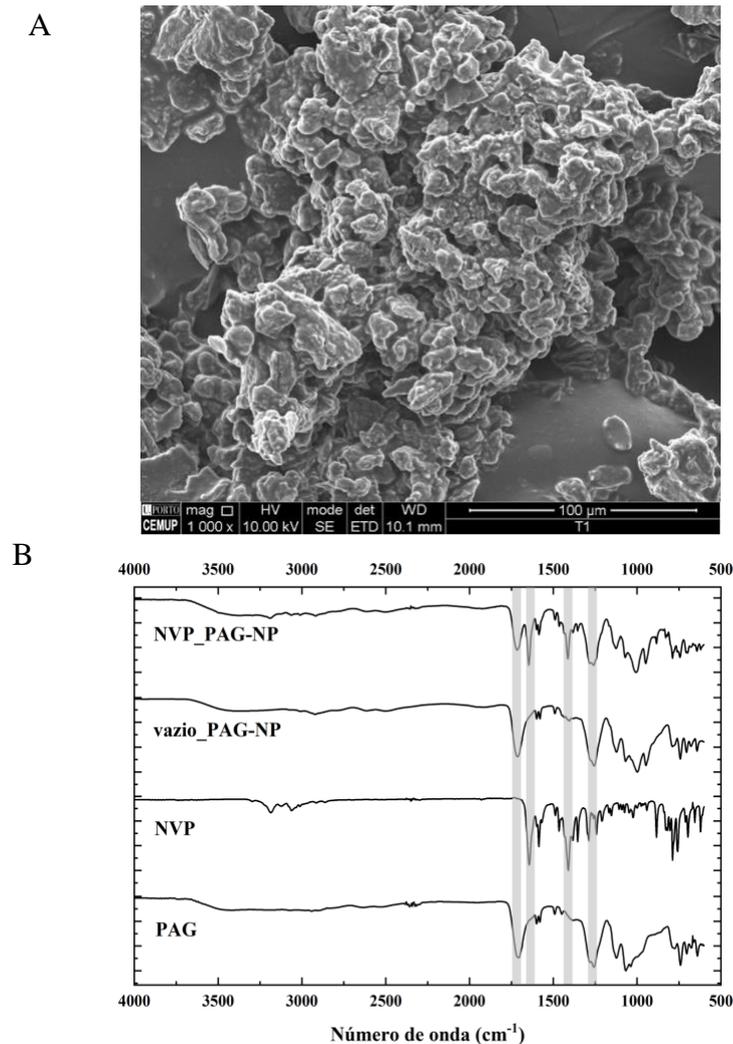


Figura 1 - Caracterização das nanopartículas de goma do angico modificado com nevirapina liofilizadas: (A) microscopia eletrônica de varredura de NPfd (B) espectros de infravermelho de NPfd, PAG-NP, NVP e PAG.

A figura 1(B) contém os espectros de NVP e PAG, da nanopartícula liofilizada (NPfd) e sem o fármaco (PAG-NP). Os espectros de NVP e PAG apresentaram características semelhantes ao especificado na literatura (DE OLIVEIRA et al., 2021; VARSHOSAZ et al., 2018a). O espectro de NPfd apresenta bandas características tanto de NVP quanto de PAG, provavelmente devido ao fármaco não encapsulado que, após a secagem, permaneceu na superfície da nanopartícula.

3.2 Produção e otimização das microagulhas contendo Ch:PVP

A principal característica de um dispositivo contendo microagulhas é sua capacidade de promover microrrupturas na pele. O sucesso dessa característica possibilitará que um determinado composto seja capaz de superar a maior barreira para transdérmicos, o estrato córneo. Para atingir tal objetivo, as microagulhas do dispositivo precisam ser fortes o suficiente para se manterem numa posição mais reta possível (AZMANA et al., 2020).

Os fatores que mais influenciam nas propriedades mecânicas da formulação são: os tipos de polímeros e a composição das microagulhas (SULLY et al., 2021). No que se refere ao estudo sobre o tipo de polímeros, foi realizado uma análise prévia com dois tipos de quitosana, quitosana de alto peso molecular (Ch-HMW) e quitosana de peso molecular médio (Ch-MMW).

Após vários testes e análises, foi encontrado que a proporção de Ch-HMW e PVP capazes de formar microagulhas foi 2:1. Adicionalmente, foi evidenciado que a formulação de hidrogel contendo CH-MMH e PVP na proporção 5:3 proporcionou a produção de microagulhas com fácil remoção do molde, não quebradiças e retas. Para tanto, estas duas formulações foram utilizadas para avaliar o impacto da incorporação de nanopartículas.

3.3 Efeito da incorporação das nanopartículas PAG-NVP em microagulhas

É sabido que a incorporação das nanopartículas tem influência nas propriedades mecânicas das microagulhas (WU et al., 2021). A fim de avaliar e selecionar as formulações com maior potencial, um estudo preliminar de propriedades mecânicas foi realizado. Para isso, foram testados diferentes formatos: (1) adicionando-se 2, 3, 4 ou 5 mL do volume de nanosuspensão (NPns) durante o processo de produção do hidrogel; (2) adicionando-se uma quantidade pré-estabelecida de nanopartículas liofilizadas (NPfd) durante o processo de produção do hidrogel. Os dois pontos críticos dessa etapa foram: obter microagulhas com propriedades mecânicas adequadas e obter uma maior quantidade carregamento de fármacos nas microagulhas.

Para analisar as propriedades mecânicas, foi estudada a força gerada por uma agulha ao entrar em contato com uma superfície, ou força de compressão. Por meio desse estudo, foi visto que as formulações de microagulhas contendo quitosana de alto peso molecular e PVP na proporção 2:1 (Ch-PVP 2:1) apresentaram força de compressão próximo de 0,2 N por agulha. As formulações de microagulhas produzidas com quitosana de médio peso molecular e PVP na proporção 5:3 (Ch-PVP5:3) apresentaram características diferentes dependendo da composição. A microagulha vazia e contendo nanopartículas liofilizada (MN-NPfd) apresentaram força de fratura de 0,62 e 0,88, respectivamente. Enquanto as duas formulações

contendo nanosuspensão (MN-Ns-3mL e MN-Ns-4mL) apresentaram força de 0,21 e 0,19 N, respectivamente. A formulação contendo a NPfd apresentou propriedades mecânicas superiores à que contém nanosuspensão, além de maior quantidade de nanopartículas. Essa característica sugere que a adição da nanopartícula liofilizada, influenciou nas propriedades mecânicas. Possivelmente, a interação entre NPfd e o hidrogel de Ch-PVP promoveu algum efeito que aumentou a dureza de uma agulha.

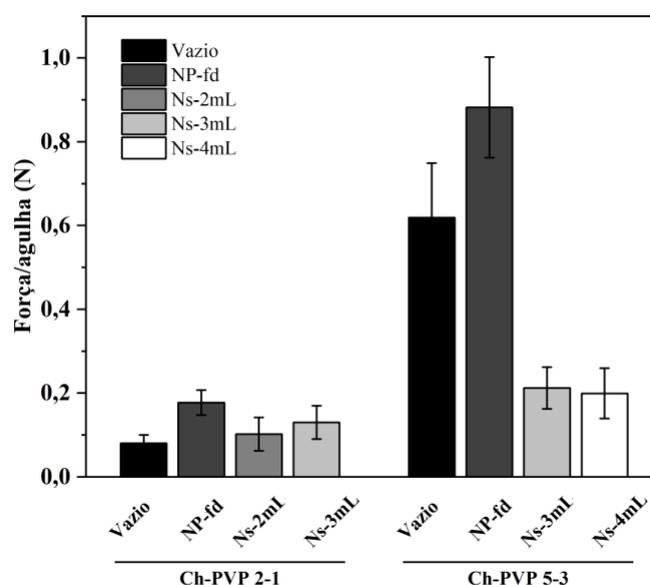


Figura 2 - Propriedades mecânicas das microagulhas.

Devido as propriedades mecânicas da formulação de microagulhas Ch-PVP 5-3, esta formulação foi selecionada a realização dos estudos seguintes. Em relação a incorporação da nanosuspensão à formulação de microagulhas, observou-se que não houve diferença estatística entre a adição de 3 ou 4 mL, portanto, para seguir aos estudos seguintes, foi escolhido a formulação de MNs com maior quantidade de nanosuspensão incorporada (4 mL). A microagulha contendo 4 mL de NPs (MN-NPs) e a microagulha contendo a nanopartícula liofilizada (MN-NPfd) continham 0,71% e 1,2% de NVP (m/m), respectivamente.

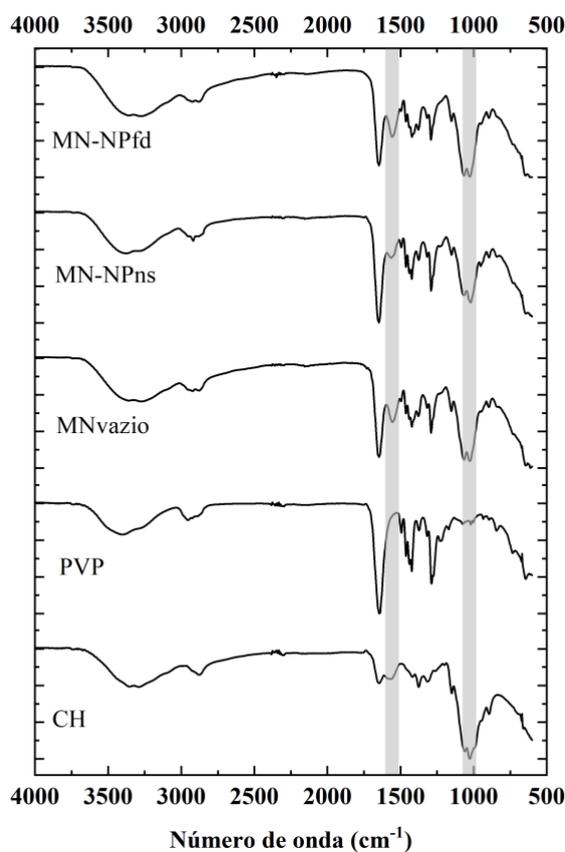


Figura 3 - Espectros das microagulhas MN-NPfd e MN-NPns e dos componentes que fazem parte de sua composição.

O ensaio de FTIR foi realizado com o objetivo de verificar a composição química das formulações e avaliar possíveis interações entre os componentes da formulação. A figura 2.A contém os espectros das microagulhas (MN-NPfd e MN-NPns) e dos componentes que fazem parte de sua composição. Os espectros de CH e PVP apresentaram características semelhantes ao especificado na literatura. Por exemplo, a CH apresentou banda em 3339 cm^{-1} correspondente a ligação OH, banda em 2875 cm^{-1} correspondente a alongamento C-H, bandas em 1651 e 1575 cm^{-1} que correspondem ao grupamento NH_2 , bandas em 1060 e 1029 cm^{-1} correspondentes ao grupamento C-O (CASTILLA-CASADIEGO et al., 2021a). O espectro de PVP sozinho apresentou uma banda alargada em 2950 cm^{-1} correspondente ao grupamento C-H, banda em 1645 cm^{-1} que corresponde ao grupamento C=O, 1287 cm^{-1} correspondente ao grupamento C-N (ZARE et al., 2021).

Ao comparar os espectros dos componentes individuais com as microagulhas, é possível observar que a composição química dos componentes foi preservada. É interessante notar que os espectros de ambas as microagulhas não demonstram sinais referentes a PAG e NVP. Isso

pode ter relação com a elevada proporção de CH e PVP em relação aos componentes da nanopartícula. Outra hipótese é que apenas CH e PVP fazem parte da superfície das microagulhas, enquanto as nanopartículas estariam incorporadas no interior das microagulhas.

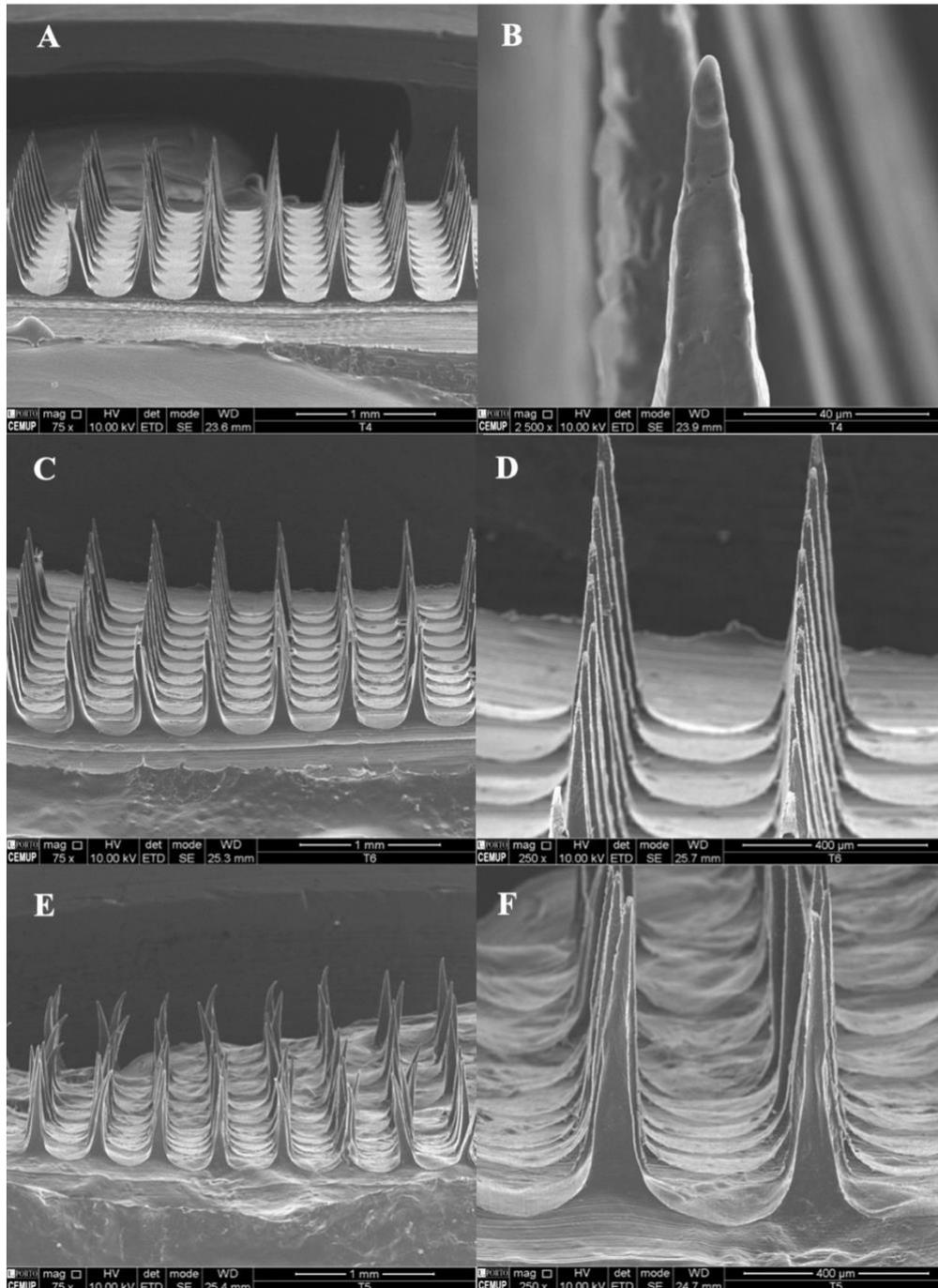


Figura 4 - Análises de microscopia eletrônica de varredura de microagulha Ch-PVP 5:3 contendo apenas os polímeros – MNvazio (A e B), microagulha contendo nanopartícula liofilizada – MN-NPfd (C e D) e microagulha contendo 4 mL de nansuspensão – MN-NPns (E e F).

Por meio das análises de microscopia eletrônica de varredura, verificou-se que as microagulhas MNvazio e MN-NPfd apresentaram-se retas e condizentes com o formato do molde de silicone ao qual elas foram moldadas (Figura 4.A e 4.C). A remoção das microagulhas do molde é um momento delicado este momento pode entortar as pontas das agulhas. Essa característica depende da composição da formulação. As imagens evidenciaram que a formulação que constitui MN-NPfd apresentou-se adequada para a produção de microagulhas.

Para a microagulha contendo nanosuspensão (MN-NPns) (Figura 4.E), é observado que a incorporação da nanosuspensão promoveu impactos visíveis nas características das agulhas. As agulhas dessa amostra apresentaram-se mais tortas, com estrutura mais fina e áspera que as demais.

As diferenças entre MN-NPfd e MN-Ns observadas na análise de microscopia eletrônica de varredura podem ser correlacionadas com o resultado de força de compressão. No qual, por ser mais reta e uniforme, MN-NPfd apresentou maior resistência à compressão. Enquanto, MN-NPns apresentou-se menor resistência à compressão, provavelmente devido a maior facilidade de entortar e quebrar-se.

3.4 Ensaio de permeação

O ensaio de permeação das microagulhas foi realizado utilizando orelha de porco. Este ensaio foi realizado para a microagulha contendo a nanosuspensão (MN-NPns) e contendo a nanopartícula liofilizada (MN-NPfd). É possível observar que houve uma baixa liberação no fármaco nas primeiras 10 horas de ensaio, tanto para a MN-NPns, quanto a MN-NPfd. Esse perfil pode ser devido a forte interação entre nanopartícula e os componentes da microagulha. Provavelmente, as primeiras 10 horas de ensaio dependeram da malha de hidrogel formado entre quitosana e PVP (GORANTLA et al., 2021). Além disso, a quitosana é um biopolímero cuja estrutura geral constitui-se de carga positiva e a PAG, carga negativa (CHEN et al., 2012; DE OLIVEIRA et al., 2021). Essas características podem ter promovido uma elevada interação entre os dois componentes, dificultando ainda mais a liberação do fármaco.

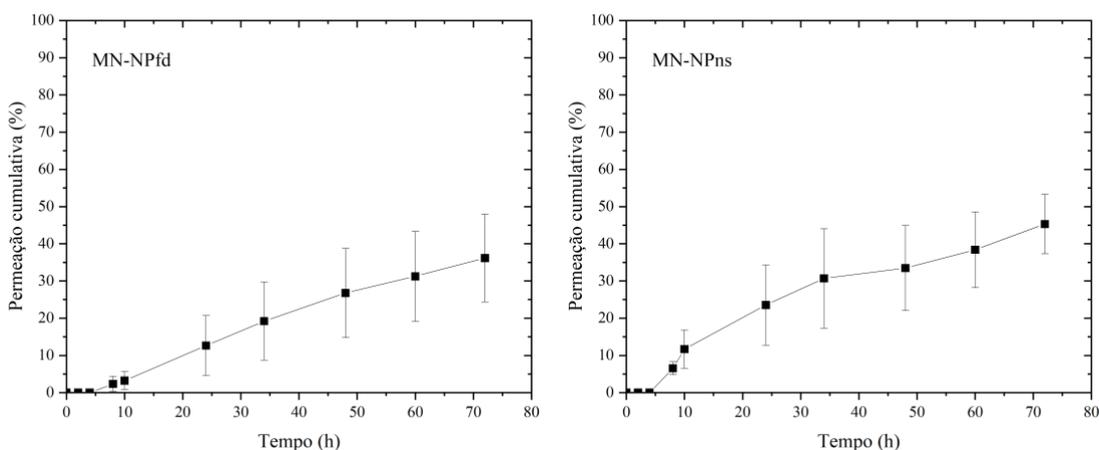


Figura 5 – Ensaio de permeação das microagulhas MN-NPns e MN-NPfd, gráfico representativo da permeação cumulativa (%).

A partir de 10 horas de ensaio foi observado um aumento progressivo e gradual de fármaco permeado através da pele, atingindo um total de 45,3 e 36,1% de fármaco liberado em 72 h para MN-NPns e MN-NPfd, respectivamente. Apesar de constituir uma menor quantidade de nanopartícula em sua formulação, a MN-NPns proporciona um maior percentual de fármaco liberado, principalmente nas primeiras 34 horas de ensaio. Após esse período, ocorre um aumento significativo da concentração de NVP no ensaio de MN-NPns em relação a MN-NPfd. Ao fim de 72 horas de ensaio, observou-se que MN-NPfd e MN-Ns liberaram um total de 13,2 $\mu\text{g/mL}$ e 9,75 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

O ensaio de permeação dos dispositivos evidenciou uma liberação prolongada do fármaco em 72 horas de ensaio. Essa característica demonstra que o dispositivo pode funcionar como um reservatório do fármaco na pele, promovendo uma liberação controlada do fármaco.

3.5 Estudos histológicos

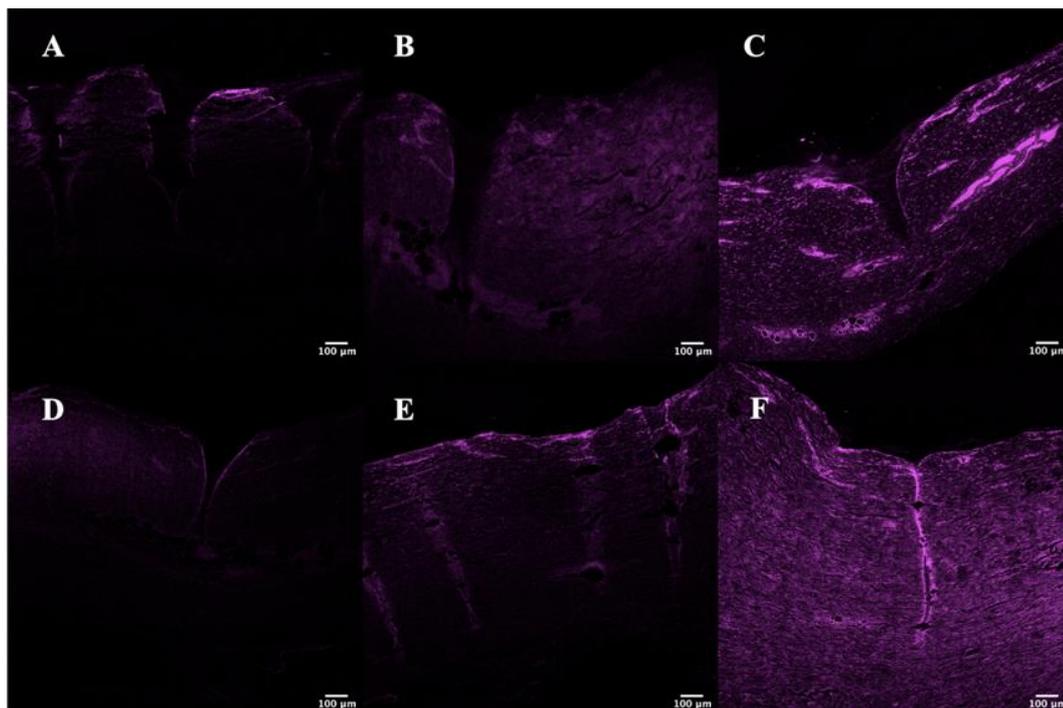


Figura 6 - Amostra de cortes histológicos da pele de porco após 1, 3 e 24h de ensaio. Para MN-NPfd: 1h (A), 3 h (B) e 24 h (C) e para MN-NPns: 1h (D), 3 h (E) e 24 h (F).

O estudo histológico da pele foi realizado para MN-NPfd nos tempos de 1h (Fig.4.A), 3 h (Fig. 4.B) e 24 h (Fig. 4.C) e MN-NPns nos tempos de 1h (Fig.4.D), 3 h (Fig.4.E) e 24 h (Fig.4.F). Os resultados mostraram que ambas as formulações foram capazes de proporcionar rupturas na pele proveniente da inserção da microagulha. As inserções parecem retilíneas e possuem tamanho semelhante as microagulhas, sinal de que não houve quebra das microagulhas após inserção. Essa característica confirma os resultados observados no estudo das propriedades mecânicas. É possível verificar também que há um aumento da intensidade de rodamina com o aumento do tempo de estudo, mas não foi possível verificar diferenças entre MN-fd e MN-ns. Resultados semelhantes foram observados para microagulhas desenvolvidas com alginato para incorporação do fármaco rivastigmina (GUIMARÃES et al., 2022).

4. Conclusão

A busca por alternativas que promovam facilidade de administração de um medicamento viabilizou a utilização das microagulhas como dispositivo capaz de ser um depósito do fármaco na pele. Alinhar a utilização de microagulhas com nanoterapia fortaleceu ainda mais essa estratégia. Por meio desse estudo foi possível verificar o potencial de aplicação

de nanopartículas da goma do angico ftalada contendo o fármaco nevirapina em microagulhas de CH:PVP. Além de constituir propriedades mecânicas capazes de gerar microrupturas na pele, o dispositivo apresentou uma liberação lenta e progressiva do fármaco.

6 CONCLUSÃO FINAL DA TESE

- Apesar de pouco utilizado, a goma do angico se mostra como um material sustentável promissor para diversas aplicações tecnológicas.
- Neste trabalho foi realizado a modificação de ftalação da goma do angico (*Anadenanthera colubrina*) confirmado por análises de RMN, FTIR, DRX, TG e análise elementar.
- Este biopolímero modificado demonstrou-se aplicável para o desenvolvimento de nanopartículas para o encapsulamento do fármaco antirretroviral nevirapina.
- Por meio do estudo de revisão apresentado no artigo 2, foi possível verificar que microagulhas são os dispositivos transdérmicos promissores para o direcionamento de fármacos à corrente sanguínea e, inclusive, para linfonodos.
- Foi possível promover a incorporação da nanopartícula de goma do angico ftalada contendo nevirapina em microagulhas de CH:PVP.
- As microagulhas desenvolvidas apresentaram adequadas propriedades mecânicas e um perfil de permeação progressivo do fármaco em 72 h de ensaio.

REFERÊNCIAS

- ABELLAN-POSE, R. et al. Polyaminoacid nanocapsules for drug delivery to the lymphatic system: Effect of the particle size. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 509, n. 1–2, p. 107–117, 2016.
- ABO-ZEID, Y. et al. Enhanced nanoparticle uptake into virus infected cells: Could nanoparticles be useful in antiviral therapy? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 547, n. 1–2, p. 572–581, 2018.
- ABRAMS, E. J. et al. **Propelling the Pediatric HIV Therapeutic Agenda With Science, Innovation, and Collaboration**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://journals.lww.com/jaids>>. Acesso em: 8 fev. 2019.
- AHMED, K. S. et al. Derma roller® microneedles-mediated transdermal delivery of doxorubicin and celecoxib co-loaded liposomes for enhancing the anticancer effect. **Materials Science and Engineering C**, v. 99, p. 1448–1458, 1 jun. 2019.
- AIEDEH, K.; TAHA, M. O. Synthesis of chitosan succinate and chitosan phthalate and their evaluation as suggested matrices in orally administered, colon-specific drug delivery systems. **Archiv der Pharmazie**, v. 332, n. 3, p. 103–107, 1999.
- ALKILANI, A. Z.; MCCRUDDEN, M. T. C.; DONNELLY, R. F. Transdermal drug delivery: Innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. **Pharmaceutics**, v. 7, n. 4, p. 438–470, 2015.
- AMARAL, A. E. DO et al. Leishmanicidal activity of polysaccharides and their oxovanadium(IV/V) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 90, p. 732–741, 2015.
- ARAÚJO, T. S. L. et al. Biopolymer extracted from *adenanthera colubrina* (Red angico gum) exerts therapeutic potential in mice: antidiarrheal activity and safety assessment. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 1, 1 jan. 2020.
- ATAÍDE, J. A. et al. **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO LIOFILIZADA DE NANOPARTÍCULAS A BASE DE QUITOSANA CONTENDO BROMELINA, COMPOSIÇÃO LIOFILIZADA DE NANOPARTÍCULAS A BASE DE QUITOSANA CONTENDO BROMELINA E USO NO TRATAMENTO DE FERIDAS**, 2021.
- AZMANA, M. et al. Transdermal drug delivery system through polymeric microneedle: A recent update. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, p. 101877, 2020.
- BABADI, D. et al. Biopharmaceutical and pharmacokinetic aspects of nanocarrier-mediated oral delivery of poorly soluble drugs. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 62, p. 102324, 2021.
- BAGHAEI, M. et al. Optimization of chitosan-based polyelectrolyte nanoparticles for gene delivery, using design of experiment: in vitro and in vivo study. 2020.
- BAMFORD, A. et al. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA)

guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection 2015: optimizing health in preparation for adult life. **HIV Medicine**, v. 19, n. 1, p. e1–e42, jan. 2018.

BAMRUNGSAP, S. et al. Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 1, n. 1, p. 71–88, 2016.

BARBOSA, A. I.; COSTA LIMA, S. A.; REIS, S. Development of methotrexate loaded fucoidan/chitosan nanoparticles with anti-inflammatory potential and enhanced skin permeation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 1115–1122, 2019.

BEAUMONT, M. et al. Hydrogel-Forming Algae Polysaccharides: From Seaweed to Biomedical Applications. **Biomacromolecules**, v. 22, n. 3, p. 1027–1052, 8 mar. 2021.

BOS, J. D.; MEINARDI, M. M. H. M. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. **Experimental Dermatology**, v. 9, n. 3, p. 165–169, 2000.

BRASIL. **Manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes**. [s.l.] Ministério da Saúde, 2017.

BRAZ, E. M. DE A. et al. Modified chitosan-based bioactive material for antimicrobial application: Synthesis and characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p. 640–647, 2018.

CAO, S.; WOODROW, K. A. Nanotechnology approaches to eradicating HIV reservoirs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 18, n. June, p. 30321–7, 2018.

CASTILLA-CASADIEGO, D. A. et al. Design, characterization, and modeling of a chitosan microneedle patch for transdermal delivery of meloxicam as a pain management strategy for use in cattle. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, n. August 2020, p. 111544, 2021a.

CASTILLA-CASADIEGO, D. A. et al. Design, characterization, and modeling of a chitosan microneedle patch for transdermal delivery of meloxicam as a pain management strategy for use in cattle. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, p. 111544, 1 jan. 2021b.

CHAUDHARY, S. et al. Recent approaches of lipid-based delivery system for lymphatic targeting via oral route. **Journal of Drug Targeting**, v. 22, n. 10, p. 871–882, 2014.

CHAULAGAIN, B. et al. Passive delivery of protein drugs through transdermal route. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 472–487, 2018.

CHAVES, L. L. et al. PH-sensitive nanoparticles for improved oral delivery of dapsone: Risk assessment, design, optimization and characterization. **Nanomedicine**, v. 12, n. 16, p. 1975–1990, 2017.

CHAVES, L. L. et al. Development of PLGA nanoparticles loaded with clofazimine for oral delivery: Assessment of formulation variables and intestinal permeability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 112, n. August 2017, p. 28–37, 2018a.

CHAVES, L. L. et al. Nanosystems as modulators of intestinal dapsone and clofazimine

delivery. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 103, n. March, p. 1392–1396, 2018b.

CHEN, M. et al. Nanoparticles-encapsulated polymeric microneedles for transdermal drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 325, p. 163–175, 2020.

CHEN, M. C. et al. Chitosan microneedle patches for sustained transdermal delivery of macromolecules. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 12, p. 4022–4031, 2012.

CHEN, Y. H. et al. Implantable microneedles with an immune-boosting function for effective intradermal influenza vaccination. **Acta Biomaterialia**, v. 97, p. 230–238, 2019.

CHO, H. Y.; LEE, Y. B. Nano-sized drug delivery systems for lymphatic delivery. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 868–880, 2014.

CORDEIRO, A. S. et al. Engineering polymeric nanocapsules for an efficient drainage and biodistribution in the lymphatic system. **Journal of Drug Targeting**, v. 27, n. 5–6, p. 648–658, 2019.

COTE, B. et al. Lymphatic changes in cancer and drug delivery to the lymphatics in solid tumors. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 144, p. 16–34, 2019.

CRECENTE-CAMPO, J. et al. Design of polymeric nanocapsules to improve their lympho-targeting capacity. **Nanomedicine**, v. 14, n. 23, p. 3013–3033, 2019.

CRUCHO, C. I. C.; BARROS, M. T. Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. **Materials Science and Engineering: C**, v. 80, p. 771–784, 1 nov. 2017.

DA CUNHA, A. B. M. et al. pH-sensitive microcapsules based on biopolymers for active corrosion protection of carbon steel at different pH. **Surface and Coatings Technology**, v. 402, n. May, 2020.

DATHATHRI, E. et al. Fabrication of low-cost composite polymer-based micro needle patch for transdermal drug delivery. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v. 10, n. 2, p. 371–377, 2020.

DE OLIVEIRA, T. C. et al. Eco-friendly synthesis of phthalate angico gum towards nanoparticles engineering using Quality by Design (QbD) approach. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 190, n. August, p. 801–809, 2021.

DE OLIVEIRA, T. C. et al. The role of nanocarriers for transdermal application targeted to lymphatic drug delivery: Opportunities and challenges. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 68, p. 103110, 2022.

DE PAULA, R. C. M.; BUDD, P.; RODRIGUES, J. Characterization of Anadenanthera macrocarpa exudate polysaccharide. **Polymer international**, v. 44, n. December 1993, p. 55–60, 1997.

DE SOUSA, A. K. A. et al. Quaternization of angico gum and evaluation of anti-staphylococcal effect and toxicity of their derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1175–1183, 1 maio 2020.

- DELGOBO, C. L. et al. Gum heteropolysaccharide and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1207–1214, 1998.
- DELGOBO, C. L. et al. The free reducing oligosaccharides of angico branco (*Anadenanthera colubrina*) gum exudate: An aid for structural assignments in the heteropolysaccharide. **Carbohydrate Research**, v. 320, n. 3–4, p. 167–175, 1999.
- DESAI, P. R. et al. Topical delivery of anti-TNF α siRNA and capsaicin via novel lipid-polymer hybrid nanoparticles efficiently inhibits skin inflammation in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 170, n. 1, p. 51–63, 28 ago. 2013.
- DESTACHE, C. J. et al. Antiretroviral release from poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles in mice. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 10, p. 2183–2187, 2010.
- DEVINENI, J. et al. Effective single drug treatment of lymphatic filariasis through enhanced transdermal delivery of ivermectin liposomes using solid and dissolving microneedles. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 54, n. 3, p. S492–S504, 2020.
- DIAS, S. F. L. et al. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 254–261, 2016.
- DODDAPANENI, B. S. et al. A three-drug nanoscale drug delivery system designed for preferential lymphatic uptake for the treatment of metastatic melanoma. **Journal of Controlled Release**, v. 220, p. 503–514, 2015.
- DU, Y. et al. Vibrational spectroscopic study of polymorphism and polymorphic transformation of the anti-viral drug lamivudine. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 1158–1163, 2015.
- DUBEY, V. et al. Enhanced transdermal delivery of an anti-HIV agent via ethanolic liposomes. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, n. 4, p. 590–596, 2010.
- EASTMAN, R. T.; FIDOCK, D. A. Artemisinin-based combination therapies: a vital tool in efforts to eliminate malaria. **Nature reviews. Microbiology**, v. 7, n. 12, p. 864–74, dez. 2009.
- EIRAS, C. et al. Nanocompósitos eletroativos de poli-o-metoxianilina e polissacarídeos naturais. **Química Nova**, v. 30, p. 1158–1162, 2007.
- EIRAS, C. et al. Natural polysaccharides as active biomaterials in nanostructured films for sensing. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 21, n. 11, p. 1533–1543, 1 jul. 2010.
- ESCOBAR-CHAVEZ, J. et al. Nanocarriers for transdermal drug delivery. **Research and Reports in Transdermal Drug Delivery**, v. 1, p. 3–17, 2012.
- FONSECA, D. F. S. et al. Pullulan microneedle patches for the efficient transdermal administration of insulin envisioning diabetes treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, p. 116314, 1 ago. 2020.
- FRIEDMAN, N. et al. Physical properties of gold nanoparticles affect skin penetration via

hair follicles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 36, p. 102414, 1 ago. 2021.

GARCÍA-CASAS, I. et al. Generation of quercetin/cellulose acetate phthalate systems for delivery by supercritical antisolvent process. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, p. 79–86, 2017.

GARKAL, A.; AVACHAT, A. Development and in-vitro in-vivo characterization of in-situ gelling sustained-release nevirapine suspension. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 67, p. 102938, 2022.

GILABERTE, Y. et al. Anatomy and Function of the Skin. In: **Nanoscience in Dermatology**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. p. 1–14.

GOPINATH, V. et al. A review of natural polysaccharides for drug delivery applications: Special focus on cellulose, starch and glycogen. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 107, p. 96–108, 1 nov. 2018.

GORANTLA, S. et al. Chitosan-based microneedles as a potential platform for drug delivery through the skin: Trends and regulatory aspects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, p. 438–453, 1 ago. 2021.

GOSWAMI, S.; NAIK, S. Natural gums and its pharmaceutical application. **Journal of Scientific and Innovative Research JSIR**, v. 3, n. 31, p. 112–121, 2014.

GUIMARÃES, D.; CAVACO-PAULO, A.; NOGUEIRA, E. Design of liposomes as drug delivery system for therapeutic applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 601, p. 120571, 2021.

GUIMARÃES, T. M. T. et al. Polymeric Microneedles for Transdermal Delivery of Rivastigmine : Design and Application in Skin Mimetic Model. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 752, 2022.

GUL, R. et al. Functionalised nanostructures for transdermal delivery of drug cargos. **Journal of Drug Targeting**, v. 26, n. 2, p. 110–122, 2018.

HAMRAPURKAR, P. et al. Determination of nevirapine in human plasma by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **International Journal of Pharmtech Research**, v. 2, n. 2, p. 1316–1324, 2010.

HEDAYATI, S.; NIAKOUSARI, M.; MOHSENPOUR, Z. Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 136–142, 15 jan. 2020.

HOSNY, K. M. et al. Nanovesicular systems loaded with a recently approved second generation type-5 phosphodiesterase inhibitor (avanafil): I. Plackett-Burman screening and characterization. 2017.

HOSNY, K. M. et al. Nanovesicular systems loaded with a recently approved second generation type-5 phosphodiesterase inhibitor (avanafil): I. Plackett-Burman screening and characterization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 43, p. 154–159, 2018.

- HU, C.-M. J.; ZHANG, L. Nanoparticle-based combination therapy toward overcoming drug resistance in cancer. **Biochemical Pharmacology**, v. 83, n. 8, p. 1104–1111, 15 abr. 2012.
- HUANG, Y. et al. Research progress on cosmetic microneedle systems: Preparation, property and application. **European Polymer Journal**, v. 163, p. 110942, 2022.
- ILES, B. et al. Alendronate sodium-polymeric nanoparticles display low toxicity in gastric mucosal of rats and Ofcol II cells. **NanoImpact**, v. 24, p. 100355, 2021.
- JAIN, S. et al. Formulation and Evaluation of Ethosomes for Transdermal Delivery of Lamivudine. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 4, p. 111, 2007.
- JAIN, S. K. et al. Solid lipid nanoparticles bearing flurbiprofen for transdermal delivery. **Drug Delivery: Journal of Delivery and Targeting of Therapeutic Agents**, v. 12, n. 4, p. 207–215, 2005.
- JEONG, S. H. et al. Soft- and hard-lipid nanoparticles: a novel approach to lymphatic drug delivery. **Archives of Pharmacol Research**, v. 41, n. 8, p. 797–814, 2018.
- JHAWAT, V. C. et al. Transdermal Drug Delivery Systems: Approaches and Advancements in Drug Absorption through Skin. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 20, n. 1, p. 47–56, 2013.
- JIANG, H.; WANG, Q.; SUN, X. Lymph node targeting strategies to improve vaccination efficacy. **Journal of Controlled Release**, v. 267, p. 47–56, 2017.
- JIANG, T. et al. Progress in transdermal drug delivery systems for cancer therapy. **Nano Research**, v. 13, n. 7, p. 1810–1824, 2020a.
- JIANG, Y. et al. Pharmacokinetics of a weekly transdermal delivery system of tenofovir alafenamide in hairless rats. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 582, 2020b.
- JINDAL, A. B. **The effect of particle shape on cellular interaction and drug delivery applications of micro- and nanoparticles** *International Journal of Pharmaceutics* Elsevier B.V., , 30 out. 2017. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/ijpharm>. Acesso em: 3 mar. 2021
- JOHNSON, L. A. et al. Dendritic cells enter lymph vessels by hyaluronan-mediated docking to the endothelial receptor LYVE-1. **Nature Immunology**, v. 18, n. 7, p. 762–770, 20 jun. 2017.
- JOHNSON, L. A.; JACKSON, D. G. Inflammation-induced secretion of CCL21 in lymphatic endothelium is a key regulator of integrin-mediated dendritic cell transmigration. **International Immunology**, v. 22, n. 10, p. 839–849, 25 ago. 2010.
- JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 417–427, 2014.
- JURAK, M. et al. Historical Perspective What affects the biocompatibility of polymers? 2021.
- KHAN, A. A. et al. Advanced drug delivery to the lymphatic system: Lipid-based

nanoformulations. **International Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 2733–2744, 2013.

KIM, Y. C.; PARK, J. H.; PRAUSNITZ, M. R. Microneedles for drug and vaccine delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 14, p. 1547–1568, 2012.

KONG, M. et al. Enhanced transdermal lymphatic drug delivery of hyaluronic acid modified transfersomes for tumor metastasis therapy. **Chem. Commun**, v. 51, p. 1453, 2015.

KOYYADA, A.; ORSU, P. Natural gum polysaccharides as efficient tissue engineering and drug delivery biopolymers. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p. 102431, 2021.

KOZLU, S. et al. Development and in vitro evaluation of doxorubicin and celecoxib co-loaded bone targeted nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 45, n. October 2017, p. 213–219, 2018.

KUMAR, R.; PHILIP, A. Modified Transdermal Technologies: Breaking the Barriers of Drug Permeation via the Skin. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 1, p. 633–644, 2007.

KUNDA, N. K. et al. Nanocarriers targeting dendritic cells for pulmonary vaccine delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 2, p. 325–341, 2013.

KUO, Y.-C.; CHUNG, J.-F. Physicochemical properties of nevirapine-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 83, p. 299–306, 2011.

KURMI, B. DAS et al. Transdermal Drug Delivery: Opportunities and Challenges for Controlled Delivery of Therapeutic Agents Using Nanocarriers. **Current Drug Metabolism**, v. 18, n. 5, p. 481–495, 2017.

KURODA, C. et al. Isolated lymphatic vessel lumen perfusion system for assessing nanomaterial movements and nanomaterial-induced responses in lymphatic vessels. **Nano Today**, v. 36, p. 101018, 2021.

LARRAÑETA, E. et al. A proposed model membrane and test method for microneedle insertion studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 472, n. 1–2, p. 65–73, 2014.

LEÃO, A. D. et al. Hybrid systems of glibenclamide and layered double hydroxides for solubility enhancement for the treatment of diabetes mellitus II. **Applied Clay Science**, v. 181, p. 105218, 15 nov. 2019.

LEE, P. W. et al. Multifunctional core-shell polymeric nanoparticles for transdermal DNA delivery and epidermal Langerhans cells tracking. **Biomaterials**, v. 31, n. 8, p. 2425–2434, 2010.

LEE, S. J. et al. Paclitaxel-incorporated nanoparticles of hydrophobized polysaccharide and their antitumor activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 433, n. 1–2, p. 121–128, 2012.

LEMBO, D. et al. Nanomedicine formulations for the delivery of antiviral drugs: a promising solution for the treatment of viral infections. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 15, n. 1,

p. 93–114, 2018.

LENJISA, J. L.; WOLDU, M. A.; SATESSA, G. D. New hope for eradication of HIV from the body: The role of polymeric nanomedicines in HIV/AIDS pharmacotherapy. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 12, n. 1, p. 4–9, 2014.

LI, Z. et al. Modeling Drug Absorption from the Dermis after an Injection. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 110, n. 3, p. 1279–1291.e1, 1 mar. 2021.

LIMA, M. R. et al. Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin B encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 523–530, 2018.

LIU, C. F. et al. Preparation of sugarcane bagasse cellulosic phthalate using an ionic liquid as reaction medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 1, p. 17–25, 2007.

LIU, D. et al. Fabrication of composite microneedles integrated with insulin-loaded CaCO₃ microparticles and PVP for transdermal delivery in diabetic rats. **Materials Science and Engineering C**, v. 90, p. 180–188, 1 set. 2018.

LIU, S. et al. Transdermal delivery of relatively high molecular weight drugs using novel self-dissolving microneedle arrays fabricated from hyaluronic acid and their characteristics and safety after application to the skin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 86, n. 2, p. 267–276, 1 fev. 2014.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1998.

LUESAKUL, U. et al. Quaternized chitosan-coated nanoemulsions: A novel platform for improving the stability, anti-inflammatory, anti-cancer and transdermal properties of Plai extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, n. 115625, 2020.

LUSTOSA, A. K. M. F. et al. In situ synthesis of silver nanoparticles in a hydrogel of carboxymethyl cellulose with phthalated-cashew gum as a promising antibacterial and healing agent. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 11, 2017.

MAJI, R. et al. A transferosome-loaded bigel for enhanced transdermal delivery and antibacterial activity of vancomycin hydrochloride. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 607, p. 120990, 25 set. 2021.

MALVIYA, R.; SHARMA, P. K.; DUBEY, S. K. Modification of polysaccharides: Pharmaceutical and tissue engineering applications with commercial utility (patents). **Materials Science and Engineering C**, v. 68, p. 929–938, 2016.

MANDAL, S. et al. Tenofovir alafenamide and elvitegravir loaded nanoparticles for long-acting prevention of HIV-1 vaginal transmission. **Aids**, v. 31, n. 4, p. 469–476, 2017.

MANDAL, S. et al. Long-acting parenteral combination antiretroviral loaded nano-drug delivery system to treat chronic HIV-1 infection: A humanized mouse model study. **Antiviral Research**, v. 156, p. 85–91, 2018.

MARGARIS, K. N.; BLACK, R. A. Modelling the lymphatic system: Challenges and

opportunities. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 9, n. 69, p. 601–612, 2012.

MARKOVIC, M. et al. Lipidic prodrug approach for improved oral drug delivery and therapy. **Medicinal Research Reviews**, v. 39, n. 2, p. 579–607, 2019.

MATHUR, V.; SATRAWALA, Y.; RAJPUT, M. S. Physical and chemical penetration enhancers in transdermal drug delivery system. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 4, n. 3, p. 173–183, 2010.

MC CRUDDEN, M. T. C. et al. Design, formulation and evaluation of novel dissolving microarray patches containing a long-acting rilpivirine nanosuspension. **Journal of Controlled Release**, v. 292, p. 119–129, 2018.

MELO, S. V. A. DE et al. Avaliação dos Efeitos da Incorporação de Polissacarídeos do *Anadenanthera macrocarpa* em Filmes de PVA/Quitosana. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 9, n. 1, p. 439–457, 2020.

MONIZ, T.; COSTA LIMA, S. A.; REIS, S. **Marine polymeric microneedles for transdermal drug delivery** *Carbohydrate polymers*, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118098>>. Acesso em: 19 out. 2021

MOTA, G. S. et al. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. **PLoS ONE**, v. 12, n. 12, p. 1–14, 2017.

MUKHERJEE, S. et al. Synthesis, molecular features and biological activities of modified plant polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 289, p. 119299, 1 ago. 2022.

NAIR, M. et al. Getting into the brain: Potential of nanotechnology in the management of NeuroAIDS. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 103, p. 202–217, 2016.

NAIR, R. S. et al. An Evaluation of Curcumin-Encapsulated Chitosan Nanoparticles for Transdermal Delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 2, p. 1–13, 2019.

NEUPANE, R. et al. Alternatives to biological skin in permeation studies: Current trends and possibilities. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 2, 1 fev. 2020.

NIU, C. et al. Doxorubicin loaded superparamagnetic PLGA-iron oxide multifunctional microbubbles for dual-mode US/MR imaging and therapy of metastasis in lymph nodes. **Biomaterials**, v. 34, n. 9, p. 2307–2317, 2013.

NIU, L. et al. Intradermal delivery of vaccine nanoparticles using hollow microneedle array generates enhanced and balanced immune response. **Journal of Controlled Release**, v. 294, p. 268–278, 2019.

NUNE, S. K. et al. Advances in lymphatic imaging and drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 10–11, p. 876–885, 2011.

NWAGU, T. N. et al. Chemical modification with phthalic anhydride and chitosan: Viable options for the stabilization of raw starch digesting amylase from *Aspergillus carbonarius*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 641–647, 2017.

- OLIVEIRA, A. C. DE J. et al. Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 213, n. February, p. 176–183, 2019.
- OLIVEIRA, A. C. DE J. et al. Microwave-initiated rapid synthesis of phthalated cashew gum for drug delivery systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 254, n. October, 2021.
- OLIVEIRA, M. A. et al. Synthesis and Characterization of Carboxymethylated Red Angico (*Anadenanthera macrocarpa*) Exudate Polysaccharide. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, p. 2985–2991, 2007.
- OLIVEIRA, M. A. et al. Chitosan/"angico" gum nanoparticles: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, n. 2, p. 448–451, 2009a.
- OLIVEIRA, M. A. et al. Chitosan/"angico" gum nanoparticles: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, p. 448–451, 2009b.
- OLIVEIRA, M. DE A. **Modificação Química da Goma do angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth): utilização como adsorvente de metais pesados**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO, 2005.
- PADERA, T. P.; MEIJER, E. F. J.; MUNN, L. L. The lymphatic system on disease processes and cancer progression. In: **Review in Advance**. [s.l.: s.n.]. p. 125–158.
- PAHAL, S. et al. Microneedles for Extended Transdermal Therapeutics: A Route to Advanced Healthcare. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 159, p. 151–169, 2021.
- PALMER, B. C.; DELOUISE, L. A. Nanoparticle-enabled transdermal drug delivery systems for enhanced dose control and tissue targeting. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 7–9, 2016.
- PAREDES, A. J. et al. Systemic delivery of tenofovir alafenamide using dissolving and implantable microneedle patches. **Materials Today Bio**, v. 13, n. February, p. 100217, 2022.
- PARK, S. J. et al. Quality by design: Screening of critical variables and formulation optimization of Eudragit e nanoparticles containing dutasteride. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, n. 5, p. 593–601, 2013.
- PAULA, H. C. B. et al. Lippia sidoides essential oil encapsulation by angico gum/chitosan nanoparticles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2359–2366, 2010.
- PAULA, H. C. B. et al. Alginate/cashew gum floating bead as a matrix for larvicide release. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 6, p. 1421–1427, 2012.
- PAULA, H. C. B. et al. Matrix Effect on the Spray Drying Nanoencapsulation of Lippia sidoides Essential Oil in Chitosan-Native Gum Blends. **Planta Medica**, v. 83, n. 5, p. 392–397, 2017.
- PENAZZATO, M. et al. **A Global Research Agenda for Pediatric HIV**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://journals.lww.com/jaids>>. Acesso em: 8 fev. 2019.
- PEREIRA, B. G. et al. Pseudopolymorphs and intrinsic dissolution of nevirapine. **Crystal**

Growth and Design, v. 7, n. 10, p. 2016–2023, 2007.

PERMANA, A. D. et al. Solid lipid nanoparticle-based dissolving microneedles: A promising intradermal lymph targeting drug delivery system with potential for enhanced treatment of lymphatic filariasis. **Journal of Controlled Release**, v. 316, p. 34–52, 2019.

PERMANA, A. D.; MCCRUDDEN, M. T. C.; DONNELLY, R. F. Enhanced intradermal delivery of nanosuspensions of antifilaria drugs using dissolving microneedles: A proof of concept study. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 7, 2019.

PITOMBEIRA, N. A. O. et al. Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 610–615, 2015.

POIRIER, D. et al. Hepatitis B surface antigen incorporated in dissolvable microneedle array patch is antigenic and thermostable. **Biomaterials**, v. 145, p. 256–265, 2017.

PRAUSNITZ, M. R. et al. Skin Barrier and Transdermal Drug Delivery. **Medical Therapy**, n. 124, p. 2065–2073, 2012.

QUELEMES, P. V. et al. Quaternized cashew gum: An anti-staphylococcal and biocompatible cationic polymer for biotechnological applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 567–575, 2017.

RADIX, A.; SEVELIUS, J.; DEUTSCH, M. B. Transgender women, hormonal therapy and HIV treatment: A comprehensive review of the literature and recommendations for best practices. **Journal of the International AIDS Society**, v. 19, n. Suppl 2, p. 1–8, 2016.

RAJOLI, R. K. R. et al. Modelling the intradermal delivery of microneedle array patches for long-acting antiretrovirals using PBPK. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 144, n. September, p. 101–109, 2019.

RANA, V. et al. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1031–1047, 2011.

RAWAL, T.; PATEL, S.; BUTANI, S. Chitosan nanoparticles as a promising approach for pulmonary delivery of bedaquiline. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 124, n. March, p. 273–287, 2018.

REHMAN, A. et al. Drug nanodelivery systems based on natural polysaccharides against different diseases. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 284, n. 102251, 2020.

RIBEIRO, A. J. et al. Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 188–200, 2016.

RIBEIRO, F. DE O. S. et al. Structural characterization, antifungal and cytotoxic profiles of quaternized heteropolysaccharide from *Anadenanthera colubrina*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 279–290, 2020.

RIVAS, L.; SANCHEZ-CORTES, S.; GARCÍA-RAMOS, J. V. Conformational study of AZT in aqueous solution and adsorbed on a silver surface by means of Raman spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 33, p. 6–9, 2002.

RYAN, G. M. et al. PEGylated polylysine dendrimers increase lymphatic exposure to doxorubicin when compared to PEGylated liposomal and solution formulations of doxorubicin. **Journal of Controlled Release**, v. 172, n. 1, p. 128–136, 2013.

RYAN, G. M.; KAMINSKAS, L. M.; PORTER, C. J. H. Nano-chemotherapeutics: Maximising lymphatic drug exposure to improve the treatment of lymph-metastatic cancers. **Journal of Controlled Release**, v. 193, p. 241–256, 2014.

SABBAGH, F.; KIM, S. Recent advances in polymeric transdermal drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 341, p. 132–146, 2022.

SABRI, A. H. et al. Intradermal and transdermal drug delivery using microneedles – Fabrication, performance evaluation and application to lymphatic delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 153, p. 195–215, 2020.

SAHU, T. et al. Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p. 102487, 1 jun. 2021.

SANG JUNG, H. et al. Nanographene Oxide-Hyaluronic Acid Conjugate for Photothermal Ablation Therapy of Skin Cancer. **ACS Nano**, v. 8, n. 1, p. 260–268, 2014.

SARAVANAKUMAR, K. et al. Transdermal drug delivery system: A review. **Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 2485–2490, 2015.

SCHUDEL, A.; FRANCIS, D. M.; THOMAS, S. N. Material design for lymph node drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 4, n. 6, p. 415–428, 2019.

SEIDI, F. et al. Saccharides, oligosaccharides, and polysaccharides nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 284, n. June, p. 188–212, 2018.

SHAH, S. M. et al. LeciPlex, invasomes, and liposomes: A skin penetration study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 490, n. 1–2, p. 391–403, 2015.

SHAH, S. R. et al. Application of Plackett-Burman screening design for preparing glibenclamide nanoparticles for dissolution enhancement. **Powder Technology**, v. 235, p. 405–411, 2013.

SHAHZAD, Y. et al. Breaching the skin barrier through temperature modulations. **Journal of Controlled Release**, v. 202, p. 1–13, 2015.

SHARIATINIA, Z. Big family of nano- and microscale drug delivery systems ranging from inorganic materials to polymeric and stimuli-responsive carriers as well as drug-conjugates. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, p. 102790, 1 dez. 2021.

SIKSHA, L. M.; SIKSHA, D. DAS. HIV and AIDS : Need of an effective drug delivery. n. April 2017, 2014.

SILVA, A. G. DA; RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. DE. Composição e propriedades reológicas da goma do Angico (*Anadenanthera Macrocarpa* Benth). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 34–40, 1998.

SILVA, S. C. C. C. et al. Phthalic anhydride esterified chicha gum: characterization and antibacterial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, n. September 2020, 2021.

SINGPANNA, K. et al. Transdermal delivery, cytotoxicity and anti-melanogenic activity of p-chlorophenyl benzyl ether loaded-liposomes. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 65, p. 102746, 1 out. 2021.

SONETHA, V.; MAJUMDAR, S.; SHAH, S. Step-wise micro-fabrication techniques of microneedle arrays with applications in transdermal drug delivery-A review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 68, p. 103119, 2022.

STIPA, P. et al. Prediction of drug-carrier interactions of PLA and PLGA drug-loaded nanoparticles by molecular dynamics simulations. **European Polymer Journal**, v. 147, p. 110292, 15 mar. 2021.

SUKHBIR, S.; YASHPAL, S.; SANDEEP, A. Development and statistical optimization of nefopam hydrochloride loaded nanospheres for neuropathic pain using Box–Behnken design. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 588–599, 1 set. 2016.

SULLY, R. E. et al. Nanomedicines and microneedles: A guide to their analysis and application. **Analytical Methods**, v. 13, n. 30, p. 3326–3347, 2021.

SUR, S. et al. Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system. **Nano-Structures and Nano-Objects**, v. 20, p. 100397, 2019.

SWAIN, S.; PRATAP SINGH, A.; YADAV, R. K. A review on polymer hydrogel and polymer microneedle based transdermal drug delivery system. **Materials Today: Proceedings**, 2021.

SWARTZ, M. A. The physiology of the lymphatic system. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 1–2, p. 3–20, 2001.

TORRES, C. M.; REPKE, D. B. **Anadenanthera-visionary plant of ancient South America**. New York: Routledge, 2006.

TREVASKIS, N. L.; KAMINSKAS, L. M.; PORTER, C. J. H. From sewer to saviour-targeting the lymphatic system to promote drug exposure and activity. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 11, p. 781–803, 2015.

UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. UNAIDS. **UNAIDS data 2021**. [s.l: s.n.].

VALENZUELA, P.; SIMON, J. A. Nanoparticle delivery for transdermal HRT. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 8, n. SUPPL. 1, p. S83–S89, 2012.

VAN GRIENSVEN, J. et al. Stavudine-and nevirapine-related drug toxicity while on generic fixed-dose antiretroviral treatment: incidence, timing and risk factors in a three-year cohort in Kigali, Rwanda. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, p. 148–153, 2010.

VARGASON, A. M.; ANSELMO, A. C.; MITRAGOTRI, S. The evolution of commercial

drug delivery technologies. **Nature Biomedical Engineering**, v. 5, n. 9, p. 951–967, 2021.

VARSHOSAZ, J. et al. Formulation and characterization of cellulose acetate butyrate nanoparticles loaded with nevirapine for HIV treatment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 48, n. June, p. 9–20, 2018a.

VARSHOSAZ, J. et al. Efavirenz oral delivery via lipid nanocapsules: formulation, optimisation, and ex-vivo gut permeation study. **IET Nanobiotechnology**, v. 12, n. 6, p. 795–806, 2018b.

VASCONCELOS SILVA, E. DE L. et al. Solvent-free synthesis of acetylated cashew gum for oral delivery system of insulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, n. October 2018, p. 601–608, 2019.

VENKATARAGHAVAN, R.; THIRUCHELVI, R.; SHARMILA, D. Statistical optimization of textile dye effluent adsorption by *Gracilaria edulis* using Plackett-Burman design and response surface methodology. **Heliyon**, v. 6, n. 10, 2020.

VERMA, D.; SHARMA, S. K. Recent advances in guar gum based drug delivery systems and their administrative routes. 2021.

VIEIRA, A. P. et al. Copper sorption from aqueous solutions and sugar cane spirits by chemically modified babassu coconut (*Orbignya speciosa*) mesocarp. **Chemical Engineering Journal**, v. 161, n. 1–2, p. 99–105, 2010.

VISHWAKARMA, N. et al. Lipid-Based Nanocarriers for Lymphatic Transportation. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 2, 2019.

VORA, L. K. et al. Microneedle array systems for long-acting drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 159, p. 44–76, 2021.

WAGHULE, T. et al. Quality by design (QbD) in the formulation and optimization of liquid crystalline nanoparticles (LCNPs): A risk based industrial approach. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 141, p. 111940, 1 set. 2021.

WALVEKAR, P.; GANNIMANI, R.; GOVENDER, T. Combination drug therapy via nanocarriers against infectious diseases. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 127, n. October 2018, p. 121–141, 2019.

WANG, C. et al. Enhanced Cancer Immunotherapy by Microneedle Patch-Assisted Delivery of Anti-PD1 Antibody. **Nano Letters**, v. 16, n. 4, p. 2334–2340, 2016a.

WANG, C. et al. Dissolvable microneedles based on *Panax notoginseng* polysaccharide for transdermal drug delivery and skin dendritic cell activation. **Carbohydrate Polymers**, p. 118211, 2021.

WANG, H. et al. Homogeneous esterification mechanism of bagasse modified with phthalic anhydride in ionic liquid. Part 2: Reactive behavior of hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1365–1373, 2017.

WANG, J. et al. Recent progress on synthesis, property and application of modified chitosan: An overview. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 333–344,

2016b.

WANG, M. et al. Evaluation of immunoresponses and cytotoxicity from skin exposure to metallic nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 4445–4459, 2018a.

WANG, Z. et al. Sulfated modification of polysaccharides: Synthesis, characterization and bioactivities. **Trends in Food Science and Technology**, v. 74, n. 235, p. 147–157, 2018b.

WHO. **2018 optimal formulary and limited-use list for paediatric ARVs**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://apps.who.int/bookorders>>. Acesso em: 13 jan. 2019.

WONG, H. L. et al. Nanotechnology applications for improved delivery of antiretroviral drugs to the brain. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 4–5, p. 503–517, 2010.

WU, Y. et al. Long-acting nanoparticle-loaded bilayer microneedles for protein delivery to the posterior segment of the eye. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 165, n. January, p. 306–318, 2021.

XIE, J. et al. Hyaluronic acid-containing ethosomes as a potential carrier for transdermal drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 172, n. August, p. 323–329, 2018.

XU, C. et al. Pulmonary delivery by exploiting doxorubicin and cisplatin co-loaded nanoparticles for metastatic lung cancer therapy. **Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society**, v. 295, n. November 2018, p. 153–163, 2018.

YADAV, N.; KHATAK, S.; SINGH SARA, U. V. Solid lipid nanoparticles- a review. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p. 8–18, 2013.

YANG, H. et al. Enhanced transdermal lymphatic delivery of doxorubicin via hyaluronic acid based transfersomes/microneedle complex for tumor metastasis therapy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 9–16, 2019.

YANG, L. et al. Polymeric microneedle-mediated sustained release systems: design strategies and promising applications for drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 24 jul. 2021.

ZARE, M. R. et al. Dissolvable carboxymethyl cellulose/polyvinylpyrrolidone microneedle arrays for transdermal delivery of Amphotericin B to treat cutaneous leishmaniasis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1310–1321, 2021.

ZHANG, C. et al. Skin delivery of hyaluronic acid by the combined use of sponge spicules and flexible liposomes. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 4, p. 1299–1310, 2019.

ZHANG, L. et al. Fabrication, evaluation and applications of dissolving microneedles. **International Journal of Pharmaceutics**, 2021a.

ZHANG, X. Y.; LU, W. Y. Recent advances in lymphatic targeted drug delivery system for tumor metastasis. **Cancer Biology and Medicine**, v. 11, n. 4, p. 247–254, 2014.

ZHANG, Z. et al. An update on oral drug delivery via intestinal lymphatic transport. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, 9 abr. 2021b.

ZHOU, X. et al. Nano-formulations for transdermal drug delivery: A review. **Chinese Chemical Letters**, v. 29, n. 12, p. 1713–1724, 2018.

ZHU, J. et al. Applications and delivery mechanisms of hyaluronic acid used for topical/transdermal delivery – A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 578, n. February, p. 119127, 2020.

APÊNDICE A – Artigo 4: O PAPEL DOS NANOCARREGADORES PARA APLICAÇÃO TRANSDÉRMICA DESTINADA À DISTRIBUIÇÃO DE MEDICAMENTOS LINFÁTICOS: OPORTUNIDADES E DESAFIOS

(Artigo publicado na revista Journal of Drug Delivery Science and technology)

1. Introdução

Com o passar dos anos, houve uma necessidade maior de aprimoramento das terapias e, dessa forma, novas plataformas para a administração de medicamentos surgiram com o avanço da tecnologia (LIU et al., 2018). Recentemente, Sahu e colaboradores revisaram todas as opções terapêuticas baseadas em nanotecnologia para a ciência médica, incluindo dermatologia com diferentes nanopartículas (SAHU et al., 2021). A via transdérmica tem se mostrado uma estratégia promissora para esse fim por ser uma via não invasiva (WANG et al., 2021). É uma via de administração que pode proporcionar liberação controlada do fármaco, com efeitos mais duradouros no organismo, pois não sofre efeito de primeira passagem hepática, evitando grandes dosagens e proporcionando menor toxicidade (JIANG et al., 2020a).

Além disso, essa via pode atingir efetivamente o sistema linfático, que desempenha um papel essencial na resposta imunológica. O sistema linfático é a principal via de disseminação de infecções, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV); também está envolvido na doença de Milroy, psoríase e neoplasia (COTE et al., 2019; KURMI et al., 2017; NUNE et al., 2011; YANG et al., 2019). Células neoplásicas e alguns vírus são capazes de se instalar nos linfonodos, compartimentos inacessíveis, e desafiadores para a distribuição de medicamentos, caracterizando uma das dificuldades para o tratamento, uma vez que os gânglios tornam-se reservatórios facilitando a disseminação da patologia pelo corpo (KHAN et al., 2013). Conseqüentemente, esse sistema tornou-se alvo de interesse para a liberação de medicamentos, visando um melhor resultado terapêutico (CHO; LEE, 2014).

Embora o sistema linfático seja um alvo importante para as terapias antivirais, imunológicas e anticâncer, esse sistema não é tão facilmente acessível e não é possível usar formulações de medicamentos convencionais. Portanto, transportadores nanométricos capazes de transportar efetivamente a droga são utilizados para o direcionamento da linfa, com o objetivo de melhorar a permeabilidade da droga, proporcionando uma maior eficiência da droga com menos efeitos adversos (JEONG et al., 2018; NIU et al., 2013).

Esta revisão traz a importância e a aplicação da via transdérmica que visa atingir o sistema linfático e seu papel no tratamento de diferentes patologias por meio de nanopartículas. Os principais desafios e perspectivas dessa aplicação também serão discutidos. Apresentamos uma base para pesquisas futuras sobre sistemas de distribuição linfática transdérmica e melhoramos a compreensão da comunidade científica sobre as aplicações terapêuticas desses dispositivos.

2. Fisiologia do Sistema linfático

As funções primárias do sistema linfático são equilibrar os fluidos corporais e transportar células imunológicas por todo o corpo (PADERA; MEIJER; MUNN, 2016). Desempenha a atividade vital de levar o fluido extracelular de volta à circulação, destruindo patógenos e filtrando outros resíduos circulantes (MARGARIS; BLACK, 2012). Além disso, é essencial absorver ácidos graxos de cadeia longa, triglicerídeos, ésteres de colesterol, vitaminas lipossolúveis e xenobióticos (KHAN et al., 2013). O sistema linfático possui cinco estruturas principais: capilares, vasos coletores, linfonodos, troncos e dutos (JIANG; WANG; SUN, 2017).

O corpo humano tem aproximadamente 600–700 linfonodos que são as extremidades terminais do sistema linfático antes que a linfa retorne ao sistema circulatório (CHO; LEE, 2014). Os ductos interconectam os órgãos linfáticos, como medula óssea, linfonodos, baço e glândula timo (PADERA; MEIJER; MUNN, 2016).

A anatomia do sistema linfático é unilateral com um comportamento sinérgico ao sistema cardiovascular. A fisiologia linfática começa com os capilares iniciais, onde a linfa é enviada contra o gradiente de pressão de volta ao sangue. Esse movimento ocorre através dos vasos linfáticos, que impulsionam a linfa por meio da contração do músculo liso (MARGARIS; BLACK, 2012). A linfa se forma quando os intersticiais são drenados para os capilares linfáticos, passando por pelo menos um linfonodo antes de retornar à corrente sanguínea, completando o circuito de transporte de fluidos (JIANG; WANG; SUN, 2017; SWARTZ, 2001).

É através do sistema linfático que tanto os antígenos quanto as células apresentadoras de antígenos (APCs) circulam até atingirem os linfonodos, que contêm muitas células dendríticas (DCs) fagociticamente ativas e linfócitos B e T. As DCs são capazes de internalizar antígenos e de induzir uma ativação sólida da resposta imune de células T (JIANG; WANG; SUN, 2017; KUNDA et al., 2013; PADERA; MEIJER; MUNN, 2016). Durante a resposta

imune, os linfócitos migram entre e dentro dos compartimentos dos linfonodos para interações células-células críticas e proliferam, levando ao aumento. Assim, os linfonodos são essenciais no recrutamento de muitos linfócitos e na coleta de antígenos de tecidos periféricos (CHO; LEE, 2014).

Nesse contexto, o sistema linfático pode ser uma via promissora para estratégias terapêuticas e preventivas. O direcionamento de compostos para células dendríticas já foi relatado na literatura, principalmente na vacinação visando antígenos que induzem imunidade adaptativa (SCHUDEL; FRANCIS; THOMAS, 2019).

3. Rotas para alcançar o sistema linfático

A administração de medicamentos ao sistema linfático por vias usuais, como via oral e intravenosa, tem sido um desafio. As vias dessas administrações caracterizam baixa absorção e baixa absorção por nódulos linfáticos (CHAUDHARY et al., 2014). As administrações destinadas ao alcance linfático precisam ser estratégicas e com o desenho de molécula adequado. Requer o conhecimento do alvo biológico desejado, como células e receptores, e sua interação com o sistema de entrega (CHO; LEE, 2014). Moléculas muito pequenas são drenadas pelos capilares sanguíneos; por outro lado, as macromoléculas não circulam no sangue, mas podem acessar a linfa. As moléculas podem ser manipuladas para evitar a difusão pelo endotélio vascular, associando compostos de baixo peso molecular a macromoléculas transportadoras, como lipossomas, nanopartículas e polímeros, por exemplo (RYAN; KAMINSKAS; PORTER, 2014; TREVASKIS; KAMINSKAS; PORTER, 2015).

A administração intravenosa (IV), uma das formas de terapia mais utilizadas e tradicionais, pode atingir o sistema linfático por vazamento da circulação sistêmica e penetração no endotélio linfático. No entanto, não é muito prático para direcionar compartimentos específicos, como os linfonodos, que caracterizam maior interesse para algumas patologias (RYAN; KAMINSKAS; PORTER, 2014).

As vias subcutânea, intradérmica e intramuscular são mais relevantes para a administração de drogas pelo sistema linfático do que as vias oral e intravenosa. A administração subcutânea aumenta a pressão intersticial, fazendo com que o sistema linfático drene o excesso de fluido da região (COTE et al., 2019).

Nos últimos anos, pesquisadores começaram a investigar o direcionamento linfático de drogas por via oral. Embora a via oral seja a forma mais tradicional de administração de medicamentos, o ambiente gastrointestinal apresenta vários obstáculos, como pH gástrico,

enzimas e surfactantes que podem degradar o medicamento. Outra barreira é o epitélio entérico, que pode interferir na permeação de acordo com as propriedades físico-químicas da droga. Essas circunstâncias podem interferir na quantidade do medicamento que chega à corrente sanguínea para promover o efeito terapêutico (ZHANG et al., 2021b). Assim, garantir a entrega linfática por esse caminho ainda é um desafio no qual eles estão trabalhando (MARKOVIC et al., 2019; VISHWAKARMA et al., 2019).

A via que tem recebido destaque significativo para chegar ao sistema linfático nos últimos anos é a transdérmica. Como mencionado anteriormente, a derme é vascularizada por vasos sanguíneos e linfáticos, nos quais células, líquido intersticial e grandes partículas circulam para os nódulos linfáticos. Dessa forma, medicamentos administrados por via transdérmica podem atingir os reservatórios de forma eficiente e, essa estratégia parece ser promissora no combate a algumas patologias nas quais o sistema linfático desempenha um papel importante (YANG et al., 2019; ZHANG; LU, 2014).

A via transdérmica tem várias vantagens sobre outras rotas tradicionais. Além de melhorar a biodisponibilidade dos medicamentos, podem diminuir a frequência das dosagens e os efeitos adversos, principalmente relacionados ao trato gastrointestinal. Eles evitam o metabolismo de primeira passagem através do fígado, evitando que a droga seja degradada prematuramente. Além disso, as enzimas alimentares e digestivas não podem influenciar a droga (CHAULAGAIN et al., 2018; ZHU et al., 2020).

3.1 Via transdérmica destinada a atingir o sistema linfático.

3.1.1 A barreira da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo a principal barreira contra os agentes externos. Este órgão regula a entrada de microrganismos, mantém a temperatura corporal e controla o nível fisiológico da água. O sistema tegumentar é subdividido em três regiões primárias: epiderme, derme e hipoderme (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; JIANG et al., 2020a).

A epiderme, a camada superficial, é composta de queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. A superfície da epiderme é chamada de estrato córneo, composta de corneócitos achatados e circundados por uma matriz lipídica. A organização compactada dos corneócitos é o principal fator que limita a passagem do fármaco pela via

transdérmica. Esta camada é caracterizada pela constante renovação, dinamismo e movimento contínuo das células. A derme é a camada intermediária, contendo elastina, fibras de colágeno, nervos, macrófagos, glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos capilares, vasos linfáticos, além de ser nutrida por vasos sanguíneos para fornecer suporte estrutural. A hipoderme, por sua vez, consiste principalmente de adipócitos, fibroblastos e macrófagos, e é capaz de proteger contra choques, isolamento térmico e conduzir sinais nervosos (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; GILABERTE et al., 2016; JIANG et al., 2020a).

Os medicamentos podem ser absorvidos por várias vias transdérmicas, como transporte transfolicular / apendágico, intracelular e intercelular. Transfolicular / apendágico é a permeação através dos apêndices da pele, como as glândulas sudoríparas, sebáceas, folículos capilares e poros que podem fornecer dutos que cruzam o estrato córneo. Essa rota é o caminho mais curto para o medicamento, embora possa ser afetada pelas secreções liberadas nessa área. Além disso, representa apenas 0,1% do espaço total da pele, apesar de alguns estudos demonstrarem sua importância na permeação de agentes polares (JHAWAT et al., 2013; JIANG et al., 2020a). O transporte intracelular ocorre pela permeação nos corneócitos e, devido à queratina hidratada, permite a permeação de compostos hidrofílicos ou polares. Por outro lado, os corneócitos são circundados por lipídios, necessitando de difusão e partição pelos fármacos. A via intercelular permite a passagem de compostos lipídicos não polares através da matriz lipídica contínua presente entre as células. Ambas as vias intercelulares e intracelulares também são chamadas de via transepidérmica (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; JHAWAT et al., 2013; SHAHZAD et al., 2015).

Diversas características físico-químicas do fármaco contribuem para uma permeação eficiente, como coeficiente de partição, peso molecular, pKa, concentração do fármaco, integridade da pele e hidratação (SABRI et al., 2020).

A polaridade do medicamento deve ser ideal para promover a penetração na pele. Moléculas altamente lipofílicas seriam retidas superficialmente devido à sua afinidade com o estrato córneo, enquanto as moléculas hidrofílicas não podem penetrar. O fármaco deve ser lipofílico e hidrofílico para obter uma partição ideal, uma vez que o estrato córneo é quase constituído por uma bicamada lipídica. Assim, é necessário um coeficiente de partição adequado para superar essa limitação (BOS; MEINARDI, 2000; JHAWAT et al., 2013).

O peso molecular é de grande importância e é inversamente proporcional à absorção. Um peso molecular mais baixo do fármaco promove uma melhor penetração na pele do que um peso molecular mais alto do fármaco, e a absorção também pode ser melhorada (SINGPANNA

et al., 2021). Moléculas com mais de 500 daltons não penetram na pele de maneira eficaz (KUMAR; PHILIP, 2007; YANG et al., 2019).

O pH do fármaco deve ser o pH do estrato córneo, que varia entre 4,2 e 5,6. Quanto mais próximo o pH do fármaco estiver dessa faixa, menor o grau de ionização e, conseqüentemente, a permeabilidade pode ser melhorada. Um Log P mais alto é uma característica dos medicamentos não ionizados que devem ter o melhor coeficiente de permeabilidade da pele (NEUPANE et al., 2020).

Outro determinante que contribui para a penetração transdérmica é a concentração do fármaco. A passagem do fármaco pela pele pode ocorrer por difusão passiva, e uma concentração mais alta do fármaco pode promover uma taxa de difusão mais alta. Além disso, é necessário considerar a viscosidade da formulação uma vez que foi observado que fluidos muito viscosos proporcionam uma taxa de difusão diminuída (JHAWAT et al., 2013).

Também é essencial considerar as condições da pele. Normalmente, as peles mais jovens absorvem a formulação com mais eficiência do que as peles maduras. Além disso, existe uma grande probabilidade de penetração do medicamento quando a pele está mais hidratada. Outra característica a ser considerada é a temperatura da pele, que pode promover vasodilatação e aumentar a taxa de permeação (SARAVANAKUMAR et al., 2015).

Quando as drogas e outros compostos ativos não conseguem penetrar na pele, é possível usar alguns intensificadores de permeação para superar esse problema. Os promotores de permeação da pele ajudam a aumentar a permeação devido à modificação temporária da estrutura da pele. Podem ser classificados como físicos e químicos (JHAWAT et al., 2013; MATHUR; SATRAWALA; RAJPUT, 2010).

Os intensificadores físicos mais usados são eletroporação, iontoforese e ultrassom. Essas técnicas requerem o uso de equipamentos e, portanto, são mais caras. Os principais intensificadores químicos são etanol, metanol, acetona, surfactantes como laurel sulfato de sódio, ácidos graxos e uréia. Eles são de baixo custo, mais fáceis de usar e podem ser incorporados em um patch de formulação. Por outro lado, uma desvantagem relevante dos promotores químicos é que eles podem irritar o estrato córneo (PRAUSNITZ et al., 2012).

3.1.2 O alcance linfático

Após superar a barreira do estrato córneo, os compostos ativos acessam uma rede de capilares linfáticos e sanguíneos. Os capilares linfáticos possuem uma camada de células abertas que podem facilitar a circulação de alguns medicamentos. Após drenar para os capilares

linfáticos, os medicamentos podem ser direcionados para os linfonodos regionais (DODDAPANENI et al., 2015). Outra forma de chegar ao sistema linfático é por meio das células apresentadoras de antígenos (APC). Essas células capturam todos os tipos de agentes exógenos e os capturam para os nódulos linfáticos. A migração ocorre porque os APCs são revestidos com ácido hialurônico, componente que proporciona um encaixe entre o APC e os capilares linfáticos (JOHNSON et al., 2017; JOHNSON; JACKSON, 2010). Vários relatórios mostram os benefícios de revestir nanotransportadores com ácido hialurônico para aumentar o direcionamento linfático (JOHNSON et al., 2017; KONG et al., 2015).

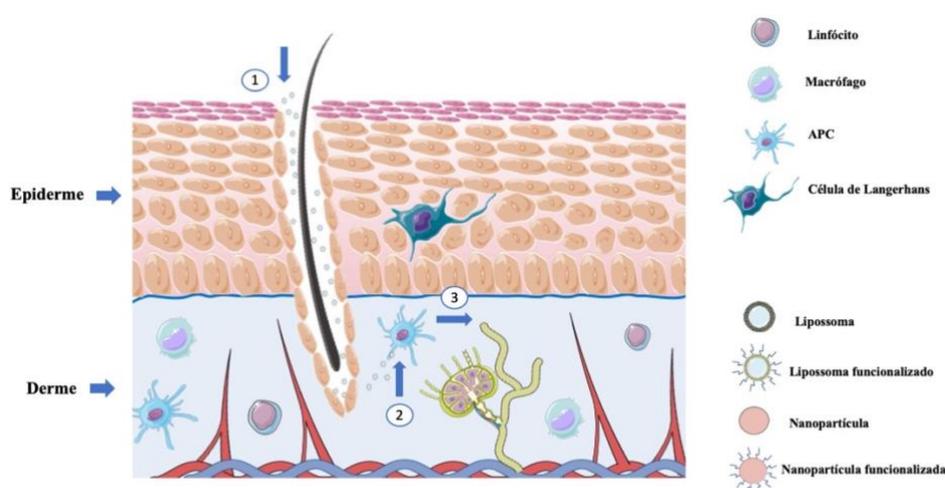


Figura 1 – Esquema da estrutura da pele, seus constituintes e o sistema linfático atingindo após a administração de nanocarreadores. (1) A aplicação tópica de nanocarreadores pode atingir camadas mais profundas da pele via transfolicular / apendágica via (2) Os nanocarreadores são reconhecidos por APCs e (3) as nanopartículas são direcionadas aos gânglios linfáticos presentes na pele.

4. Nanocarreadores como sistemas de entrega transdérmica direcionados à linfa

Apesar dos benefícios, ainda existem desafios em relação à administração transdérmica. Conforme visto anteriormente, o estrato córneo atua como um escudo, e apenas algumas drogas podem atingir essa camada (PALMER; DELOUISE, 2016). No entanto, a nanotecnologia para entrega transdérmica de medicamentos é uma estratégia promissora, pois pode aumentar a taxa de permeação sem afetar as propriedades da pele. Além disso, eles podem ser pequenos o suficiente para atingir as camadas mais profundas da pele. Vários materiais podem produzir

nanocarreadores como lipídios e materiais à base de lipídios, materiais metálicos, polímeros hidrofóbicos e biopolímeros (SARAVANAKUMAR et al., 2015).

A administração transdérmica por meio de nanocarreadores tem sido amplamente explorada; tem algumas vantagens em relação aos sistemas convencionais. Além de permitir uma liberação prolongada do fármaco, podem proporcionar estabilidade ao fármaco até atingir o local de ação desejado, proporcionando maior eficácia (BAMRUNGSAP et al., 2016; NAIR et al., 2019; VALENZUELA; SIMON, 2012).

As características do nanocarreador influenciam a capacidade de permeação da pele, uma vez que cada um tem um mecanismo de interação com base em sua natureza e características físico-químicas (ZHOU et al., 2018). Por exemplo, nanopartículas lipídicas são fáceis de formar um filme na pele; isso promove uma diminuição da evaporação da água, aumenta a hidratação da pele, aumenta o espaço entre os queratinócitos e, conseqüentemente, aumenta a permeação dos sistemas lipídicos (SHAH et al., 2015). Por outro lado, os nanocarreadores baseados em polímero são facilmente permeáveis através do folículo piloso (DESAI et al., 2013).

Os nanocarreadores mais comuns usados para a rota transdérmica são nanopartículas metálicas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas de lipídios sólidos, lipossomas e dendrímeros (GUL et al., 2018). Dendrímeros são estruturas 3D compostas por várias pequenas moléculas adequadas para encapsular moléculas hidrofóbicas e instáveis. A permeabilidade dos dendrímeros na pele depende de fatores físico-químicos como peso molecular, concentração, carga superficial (ESCOBAR-CHAVEZ et al., 2012). Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) são compostas por lipídios fisiológicos de fontes naturais e sintéticas. Tem a vantagem de ser atóxico, não irritante, biocompatível e benéfico para uso em pele ferida. Devido à sua natureza lipídica, apresentam afinidade com os lipídios cutâneos, facilitando sua permeação. O SLN pode modular a liberação do medicamento, melhorando a distribuição do medicamento nas camadas da pele e a estabilidade do medicamento (JAIN et al., 2005; YADAV; KHATAK; SINGH SARA, 2013).

As nanopartículas poliméricas são obtidas a partir de polímeros naturais, como quitosana, amido e gelatinas, ou de polímeros sintéticos sendo o principal PLA (ácido polilático), PLGA (ácido poli-láctico-co-glicólico) e PLC (policaprolactona) os mais comumente usados (SUR et al., 2019). Eles podem transportar drogas instáveis de maneira eficiente, controlando sua liberação no corpo e modulando os efeitos adversos (BARBOSA; COSTA LIMA; REIS, 2019).

Os lipossomas são vesículas esféricas estruturadas com uma ou duas camadas de lipídios. Eles podem aprisionar diferentes tipos de compostos ativos e protegê-los da degradação. Eles são amplamente usados para medicamentos transdérmicos e cosméticos, pois são conhecidos como potencializadores de penetração (SINGPANNA et al., 2021). No entanto, esses sistemas geralmente podem liberar a droga no início do contato com as células da pele, tornando o efeito terapêutico pretendido desafiador. Outros tipos de lipossomas chamados transferossomas são ultradformáveis e têm mais resistência contra aplicações transdérmicas; eles estão sendo usados atualmente (MAJI et al., 2021).

As nanopartículas metálicas se destacam por apresentarem formas, estruturas e tamanhos diversos, podendo ser obtidas de diversos materiais como ouro, prata, óxido de ferro, óxido de titânio e óxido de zinco (SHARIATINIA, 2021). Nanopartículas de ouro, por exemplo, são particularmente atraentes para administração transdérmica, pois são capazes de atingir camadas mais profundas da pele, e sua superfície pode ser facilmente modificada para ligar diferentes tipos de ligantes (FRIEDMAN et al., 2021). Estudos mostram que as nanopartículas metálicas podem penetrar nas camadas mais profundas da pele, passando pelos folículos capilares. No entanto, esses materiais podem causar um alto nível de toxicidade (WANG et al., 2018a).

Vários estudos também mostram que os nanocarreadores podem permear com eficiência a pele, dependendo de seu tamanho, carga superficial e natureza do material (NAIR et al., 2019). Para atingir a permeação adequada, quanto menor o tamanho da partícula, mais facilmente ela pode ultrapassar o estrato córneo e atingir o tecido subcutâneo (ZHOU et al., 2018). O tamanho da nanopartícula interfere diretamente na captação pelo sistema linfático. Partículas entre 10-100 nm são ideais para absorção linfática por administração subcutânea, e. Partículas menores que 10nm são absorvidas pela circulação sistêmica (CORDEIRO et al., 2019) (Figure 2).

Os capilares linfáticos podem ser permeáveis dependendo do tamanho. É relatado que nanopartículas em torno de 100 nm podem acessar facilmente os capilares linfáticos e se concentrar nos linfonodos regionais. Já as partículas maiores que 100 nm podem ser absorvidas pelo sistema linfático lentamente (KHAN et al., 2013).

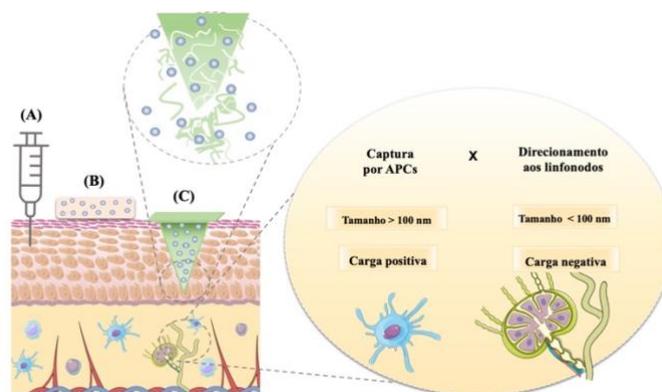


Figura 2 – Estratégias de sistemas transdérmicos para atingir o sistema linfático.

5. Estratégias para aumentar a permeação transdérmica e alcançar o sistema linfático

Antes de atingir o sistema linfático, é necessário atravessar as camadas profundas da derme (SABRI et al., 2020). Os nanocarreadores ampliaram as oportunidades de superar várias limitações de drogas, como a entrega de macromoléculas (LIU et al., 2014). No entanto, o direcionamento através do sistema linfático também é afetado pelas características das nanopartículas de superfície (SABRI et al., 2020). Esta sessão avalia diferentes estratégias para melhorar a permeação da pele e o direcionamento linfático após a administração transdérmica.

5.1 Revestimento com quitosana

A quitosana é um biopolímero amplamente utilizado para o desenvolvimento de sistemas de distribuição. Tem as vantagens de ser biocompatível, não tóxico e biodegradável. É também um biopolímero com carga positiva, característica que o torna capaz de promover interações eletrostáticas com várias membranas mucosas carregadas negativamente (REHMAN et al., 2020). Além da mucoadesão, a quitosana também promove aumento do transporte paracelular devido ao aumento do espaço entre as células epiteliais. Esses aspectos facilitam a penetração celular e justificam seu uso em diversos sistemas transdérmicos (BARBOSA; COSTA LIMA; REIS, 2019).

A administração subcutânea de nanopartículas de quitosana já demonstrou uma distribuição eficaz para o sistema linfático (CORDEIRO et al., 2019; CRECENTE-CAMPO et al., 2019). Assim, o desafio atual é promover mudanças em suas características físico-químicas para beneficiar a administração transdérmica direcionada ao sistema linfático.

Em um estudo recente, nanoemulsões com extrato de Plai foram revestidas com quitosana quaternizada, que fornece uma carga positiva nas superfícies das nanopartículas. As nanopartículas revestidas tinham um tamanho médio de 202 nm e um potencial zeta de 20,2 mV. O revestimento melhorou 50% na capacidade de permeação através da pele em comparação com a nanoemulsão não revestida (LUESAKUL et al., 2020).

Em outro estudo, nanopartículas de poli (D, L-ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) e quitosana glicol foram desenvolvidos para encapsular pontos quânticos. Após o encapsulamento, as nanopartículas foram drenadas pelas células de Langerhans para os linfonodos, comprovando a permeação transdérmica da nanopartícula e estimulação adequada do sistema imunológico (LEE et al., 2010).

5.2 Revestimento com ácido hialurônico

O ácido hialurônico (HA) é um glicosaminoglicano linear com excelente hidrofiliabilidade e vários atributos. Características do HA como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa imunogenicidade tornam esse componente amplamente utilizado em diversas áreas, como farmacêutica, biomédica e cosmética (ZHANG et al., 2019).

Devido à capacidade de formar um filme hidratante na pele, esse polissacarídeo é eficaz para administração transdérmica, aumentando a hidratação do estrato córneo e alterando sua permeabilidade (XIE et al., 2018). Porém, a fácil penetração na pele está relacionada principalmente ao HA de baixo peso molecular (ZHU et al., 2020).

Outro fator que influencia o aumento da permeação dos sistemas revestidos com HA é a presença de receptores dispostos na superfície das células e envolvidos em diversos processos biológicos (SANG JUNG et al., 2014). As células dendríticas revestidas com HA foram efetivamente direcionadas aos capilares linfáticos devido ao receptor LYVE1 (JOHNSON et al., 2017). Por esse motivo, diversos estudos utilizam o revestimento de HA para vacinação e tratamento de câncer, doenças inflamatórias e metabólicas e doenças virais como o HIV (TREVASKIS; KAMINSKAS; PORTER, 2015).

5.4 Microagulhas

Dentre todas as formas de superar o estrato córneo e promover a administração transdérmica de medicamentos, o dispositivo que ganhou destaque nos últimos anos tem sido

as microagulhas (MN) (VORA et al., 2021). MN estão se constituindo em sistemas de distribuição transdérmica de terceira geração. A aplicação MN é uma grande vantagem, que ocorre de forma indolor, rápida e pelo próprio paciente (KIM; PARK; PRAUSNITZ, 2012). Essa tecnologia permite a formação de microporos no estrato córneo para promover a administração de um medicamento, antígeno ou agente diagnóstico específico. Dessa forma, a substância ativa pode atingir a camada derme, onde estão os vasos sanguíneos e os linfócitos (POIRIER et al., 2017). Para esses fatores, o MN expandiu muito o arsenal de componentes capazes de serem administrados por via transdérmica (Figure 2-C), como macromoléculas (ZHANG et al., 2021a).

A capacidade de permear a pele e fornecer o componente ativo depende das características do MN. Esses dispositivos são fabricados de maneiras e materiais diferentes (VORA et al., 2021). O objetivo principal do desenvolvimento de MN é otimizar o comprimento, largura e pontas das agulhas para uma inserção adequada no tecido (SABRI et al., 2020). MN pode ser classificado em diferentes tipos, tais como microagulhas sólidas, revestidas, ocas, dissolventes e formadoras de hidrogel (Figure 3) (PAHAL et al., 2021).

Vários relatórios evidenciam as vantagens terapêuticas da incorporação de nanopartículas em MN (AHMED et al., 2019; CASTILLA-CASADIEGO et al., 2021b; LIU et al., 2018). Os MN entregam as nanopartículas em microcanais, distribuídas uniformemente, alcançando a derme e possivelmente a via sistêmica (CHEN et al., 2020).

Diferentes estudos têm relatado o uso de microagulhas para atingir o sistema linfático. Yang e colegas de trabalho em 2019 desenvolveram microagulhas com base em ácido hialurônico complexado com transferossomo para fornecer doxorrubicina no sistema linfático. As microagulhas apresentaram taxa de inserção de 90,4% na pele do rato e apresentaram capacidade de penetração de até 260 μm . Além disso, o sistema atingiu uma concentração máxima de doxorrubicina duas horas após a administração, sugerindo uma liberação transdérmica controlada da droga (YANG et al., 2019).

Outro estudo teve como objetivo desenvolver lipossomas com tamanho médio de 100 nm contendo ivermectina para serem incorporados em microagulhas de diferentes tipos. Estudos histológicos em orelhas de porco mostraram que as microagulhas promoveram uma excelente degradação do estrato córneo e os resultados de permeação evidenciaram uma liberação adequada de lipossomas na pele (DEVINENI et al., 2020).



Figura 3 - Tipos de microagulhas para sistemas de aplicação transdérmica: sólida, revestida, oca, dissolvente e formadora de hidrogel.

6. Aplicações relacionadas com distribuição transdérmica-linfática para o tratamento de doenças

Ter como alvo o sistema linfático pode beneficiar o tratamento de uma variedade de doenças. Um problema significativo relacionado à resistência à cura são os reservatórios corporais de difícil tratamento medicamentoso. O sistema linfático, por exemplo, pode ser um reservatório latente de microrganismos nocivos, como parasitas e vírus (PERMANA et al., 2019; RAJOLI et al., 2019). Este sistema também desempenha um papel essencial na progressão do câncer; o risco de disseminação de células metastáticas para outras regiões do corpo através dos vasos linfáticos torna a distribuição linfática um alvo estudado nos últimos anos (COTE et al., 2019; PADERA; MEIJER; MUNN, 2016). A Tabela 1 mostra os nanocarreadores usados para uma aplicação transdérmica direcionada ao sistema linfático para várias doenças. Esta seção irá destacar as aplicações mais recentes deste tema para o tratamento de doenças.

Tabela 1 - Nanocarreadores usados para aplicação transdérmica direcionados ao sistema linfático para várias doenças.

Nanosistemas	Fármacos	Terapias	Informações	References
Lipossomas + microagulhas	Ivermectina	Filariose linfática	Liberção sustentada	(DEVINENI et al., 2020)
Nanopartículas lípidicas sólidas + microagulhas	Albendazol + doxiciclina + diethylcarbamazina	Filariose linfática	Direcionamento efetivo do fármaco aos linfonodos	(PERMANA et al., 2019)
Nanosuspension + microagulhas	Ivermectina + Albendazol + doxiciclina	Filariose linfática	Efetiva retenção do fármaco na derme	(PERMANA; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2019)
Nanosuspension + microagulhas	Rilvipirina e cabotegravir	HIV	-	(RAJOLI et al., 2019)
Transferosomas e microagulhas	Doxorubicina	Cancer	-	(YANG et al., 2019)
Nanoemulsões revestidas com quitosana quaternizada	Extrato de Plai	Cancer	Permeação melhorada	(LUESAKUL et al., 2020)
Transfersomas com ácido Hialurônico	Doxorrubicina	Cancer	Direcionamento aos linfonodos	(KONG et al., 2015)
Nanopartículas de dextrano em microagulhas	Anti-PD-1	Cancer	Liberção sustentada	(WANG et al., 2016a)

Anti-PD-1:

6.1 Agentes antiretrovirais

A infecção pelo vírus do HIV representa um problema de saúde global (LEMBO et al., 2018). Entre os vários desafios, ela constitui uma doença cujo tratamento é baseado na poliquimioterapia de longo prazo, que pode levar a interações medicamentosas, efeitos adversos, biodisponibilidade limitada e a necessidade de administração frequente. Além disso, esse vírus pode se instalar em tecidos inacessíveis, impedindo a ação do medicamento. Nessas circunstâncias, as células presentes nos tecidos linfóides, como a célula dendrítica, atuam como reservatórios de vírus, protegendo-os dos antirretrovirais. Assim, explorar o sistema linfático como um alvo para erradicar com eficiência o vírus do corpo parece ser uma estratégia promissora (LENJISA; WOLDU; SATESSA, 2014).

Alguns estudos já propuseram o acesso do sistema linfático por via transdérmica. Em 2018, um estudo relatou a incorporação da nanosuspensão de rilpivirina em um adesivo de microagulhas (MAPs) dissolvido com o objetivo de promover a liberação transdérmica do medicamento anti-HIV. Os estudos *in vivo* revelaram que a concentração plasmática média de

rilpivirina em ratos foi aproximadamente dez vezes superior à concentração mínima observada após uma dose única em estudos clínicos anteriores. Embora a distribuição linfática não tenha sido o foco principal do estudo, o estudo farmacocinético mostrou uma quantidade significativa da droga neste compartimento (MC CRUDDEN et al., 2018).

Outro estudo, em 2019, teve como objetivo a obtenção de microagulhas contendo nanopartículas de rilpivirina e cabotegravir destinadas à aplicação intradérmica para atingir o sistema linfático. O sistema foi avaliado por um novo modelo proposto de farmacocinética de base fisiológica (PBPK) para simular a farmacocinética sistêmica dos MAPs de cabotegravir e rilpivirina usando a via intradérmica. Além disso, o estudo teve como objetivo estimar as características adequadas de MAP como dose de nanoformulação e taxas de liberação para propor estratégias de dosagem para manter concentrações plasmáticas adequadas para o intervalo de dosagem designado (RAJOLI et al., 2019).

6.2 Agentes antiparasitários

A filariose, também conhecida como elefantíase, é uma doença tropical parasitária. É causada por um nematóide que reside no sistema linfático e, a longo prazo, causa inchaço que desfigura o paciente. O tratamento atual consiste na ingestão de ivermectina, albendazol e dietilcarbamazepina. Porém, a ingestão desses medicamentos por via oral proporciona uma baixa concentração no sistema linfático, que é o alvo dessa patologia (DEVINENI et al., 2020; PERMANA et al., 2019).

Um estudo recente avaliou um dispositivo contendo lipossomas de ivermectina incorporados ao MN, mostrando resultados promissores para administração transdérmica direcionada ao sistema linfático. Este estudo explorou vários parâmetros que podem influenciar a incorporação de lipossomas em MN, além do estudo de permeação. No entanto, os autores concluíram que investigações *in vivo* eram necessárias para avaliar o direcionamento do fármaco para o tecido linfático (DEVINENI et al., 2020). Uma nanossuspensão para co-encapsulação dos fármacos doxiciclina, albendazol e ivermectina incorporada em MN apresentou resultados promissores *in vitro* (PERMANA; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2019).

Outro trabalho realizado por Permana et al. provou a capacidade de direcionar os linfonodos por via transdérmica. Neste estudo, nanopartículas lipídicas sólidas contendo três drogas incorporadas na dissolução de MN foram avaliadas. Este dispositivo demonstrou concentração adequada de fármacos nos gânglios axiais, ilíacos e lombares externos. Além

disso, foi determinada uma baixa concentração de drogas em órgãos como fígado, rim e baço (PERMANA et al., 2019).

6.3 Quimioterápicos

Estudos mostraram que as células cancerosas podem se espalhar pelo corpo a partir do sistema linfático (PADERA; MEIJER; MUNN, 2016). Além disso, os linfonodos podem atuar como reservatórios de células cancerígenas (RYAN; KAMINSKAS; PORTER, 2014). Devido a esses fatores, o interesse em direcionar os agentes quimioterápicos para os tecidos linfáticos tem aumentado nos últimos anos. Um desafio relevante é a captação suficiente de moléculas para aquela região capaz de eliminar células cancerosas. Além disso, a quimioterapia não deve ser tóxica para outras células do corpo (RYAN et al., 2013).

Em 2015, Kong e colaboradores evidenciaram que um nanossistema contendo transferrina-ácido hialurônico carregado com doxorrubicina poderia atingir distribuição linfática. Este estudo avaliou a permeação *in vitro* do nanossistema com pele de camundongo, estudo de distribuição *in vivo* e estudo de absorção celular. Com isso, o ácido hialurônico melhorou a captação da doxorrubicina para os vasos linfáticos (KONG et al., 2015).

Em outro estudo, Wang e colegas de trabalho desenvolveram MN de ácido hialurônico complexado com nanopartículas de dextrana. O sistema visa a entrega sustentada de anticorpo anti-PD-1 junto com glicose oxidase no microambiente tumoral. Estudos *in vivo* determinaram que o dispositivo desenvolvido pode ter como alvo nanopartículas para linfáticos dérmicos (WANG et al., 2016a). Os benefícios da terapia de metástases tumorais também foram demonstrados para um nanocarreador contendo doxorrubicina e complexado com MN. O estudo de fluorescência determinou uma elevada quantidade de doxorrubicina nos linfonodos, o que comprovou a capacidade do nanocarreador em promover captação no endotélio linfático (YANG et al., 2019).

7. Desafios e perspectivas da administração transdérmica destinada aos sistemas linfáticos

Diversos trabalhos na literatura relatam a administração subcutânea de medicamentos para obtenção de distribuição efetiva para o sistema linfático e até resultados promissores de estudos farmacocinéticos. Um aspecto negativo desses estudos é que a administração subcutânea é invasiva e de difícil acesso pelo paciente. Por outro lado, a administração

transdérmica apresenta vantagens significativas e merece maior atenção da comunidade científica. Nesse caso, o desafio é tornar as tecnologias eficazes na passagem do estrato córneo para a entrega efetiva (ABELLAN-POSE et al., 2016; CORDEIRO et al., 2019; CRECENTE-CAMPO et al., 2019).

Outros estudos relatam a capacidade eficiente do sistema de entrega em permear o estrato córneo, embora haja uma falta de informações sobre o efeito dessa permeação em compartimentos como capilares e linfonodos linfáticos (ALKILANI; MCCRUDDEN; DONNELLY, 2015; GUL et al., 2018; JHAWAT et al., 2013; NAIR et al., 2019). A influência da permeação nos linfonodos é um fator que os pesquisadores precisam considerar durante os estágios de planejamento de suas pesquisas.

Apesar de uma ligeira evolução das tecnologias de liberação de fármacos e métodos diagnósticos, ainda é um desafio determinar o mecanismo de interação dos novos sistemas com os tecidos corporais. Recentemente, uma nova metodologia permitiu avaliar quantitativa e qualitativamente a influência da perfusão dos nanossistemas em um vaso linfático. O método utilizou um vaso linfático imerso em um meio que simula o líquido intersticial, constituindo-se em um experimento *ex vivo* (KURODA et al., 2021). No entanto, alguns esforços têm sido feitos para superar esse problema para o parto oral; não há relatos de avaliação linfática em modelos de pele *ex vivo*.

Com relação aos experimentos *in vitro*, um novo modelo matemático foi desenvolvido para explicar o mecanismo de absorção da pele pelos vasos linfáticos e a ligação das proteínas do sangue. No entanto, o novo modelo de absorção linfática era confiável apenas para macromoléculas (LI et al., 2021).

Experimentos *in vivo* são amplamente utilizados, mas ainda precisam utilizar modelos animais. Nesse caso, as nanopartículas são marcadas com materiais fluorescentes, incluídos na formulação, e administradas na pele do animal. Então, a quantidade de fármaco direcionada aos nódulos linfáticos é visível e pode ser quantificada (CHEN et al., 2019; NIU et al., 2019; YANG et al., 2019).

8. Conclusão

Os sistemas de distribuição transdérmica direcionados à distribuição linfática são uma estratégia promissora para várias doenças, como câncer, HIV e infecções parasitárias. Em comparação com as vias tradicionais, a via transdérmica oferece vantagens como fácil administração pelo paciente e metabolismo limitado do fármaco pelo fígado.

Dentre todos os dispositivos mostrados neste trabalho, é notável que o MN contendo um nanocarreador seja considerado uma grande promessa para o tratamento de uma doença que visa a distribuição linfática por via transdérmica. Parecem ser a estratégia mais eficiente para superar a barreira da pele e atingir a circulação linfática dérmica. Em concomitância, os nanossistemas permitem um transporte mais acessível através das camadas da pele devido ao seu tamanho adequado e características físico-químicas e a possibilidade de anexar ligantes que podem atingir células especializadas do sistema imunológico.

A utilização da estratégia combinada de aplicação transdérmica destinada à linfa e o uso de nanocarreador parece ser uma estratégia promissora para o tratamento de doenças infecciosas e parasitárias, além do câncer, uma vez que os linfonodos atuam como reservatórios de vírus e células cancerígenas, em além disso, ser o local de residência dos parasitas.

Apesar de todas essas vantagens e das pesquisas atuais promissoras, ainda há uma necessidade de avaliar o perfil farmacocinético do sistema de entrega. Além disso, também é apropriado realizar estudos *in vivo* que determinem a quantidade de fármaco capaz de ser direcionada ao sistema linfático. Portanto, de acordo com o cenário atual, fica evidente que alguns esforços devem ser feitos para pesquisar a área de aplicação de nanocarreadores para administração transdérmica direcionados à linfa.

APÊNDICE B – LISTA DE PUBLICAÇÕES

LISTA DE ARTIGOS COMO PRIMEIRA AUTORA

OLIVEIRA, T. C., et. al. Angico gum: a promising biomaterial for future pharmaceutical and biotechnological applications.

(Artigo a ser submetido na revista European Polymer Journal - Fator de Impacto 4.59).

OLIVEIRA, T. C., et. al. Eco-friendly synthesis of phthalate angico gum towards nanoparticles engineering using Quality by Design (QbD) approach. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 190, p. 801-809, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.012>

(Artigo publicado - Fator de Impacto 6.9)

OLIVEIRA, T. C., et al. The role of nanocarriers for transdermal application target to lymphatic drug delivery: opportunities and challenges. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 68, 103110, 2022.

(Artigo publicado – fator de impacto da revista 4.3)

LISTA DE ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO COMO CO-AUTORA

OLIVEIRA, A. C. J. et al. Microwave-initiated rapid synthesis of phthalated cashew gum for drug delivery systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 254, p. 117226, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117226>.

RIBEIRO, F. O. S. et al. Structural characterization, antifungal and cytotoxic profiles of quaternized heteropolysaccharide from *Anadenanthera colubrina*, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 279-290, 2020. [10.1016/j.ijbiomac.2020.09.087](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.087).

PATENTES DEPOSITADAS COMO PRIMEIRA INVENTORA

BR1020210164450 – “PROCESSO DE PRODUÇÃO E USO DE GOMA DO ANGICO QUIMICAMENTE MODIFICADA”, instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da

Propriedade Industrial. Depósito: 19/08/2021. (Referente ao processo apresentado no Artigo 3 desta tese).

PATENTES DEPOSITADAS COMO CO-INVENTORA

BR1020210047879 – “PROCESSO DE MODIFICAÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO FTALADA FAZENDO USO DE UM REATOR DE MICRO-ONDAS”, instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 14/03/2021. (Co-inventora)

BR1020210047780 – “SISTEMAS NANOPARTICULADOS A PARTIR DO POLISSACARÍDEO MODIFICADO DE *Anacardium occidentale* L. (GOMA DO CAJUEIRO) PARA O TRATAMENTO DO HIV PEDIÁTRICO”, instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 12/03/2021. (Co-inventora)