

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA – CCET
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQUIM

LETÍCIA NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS À BASE DE MESOCARPO DE BABAÇU E
ALGINATO DE SÓDIO COMO MATRIZ CARREGADORA DO FÁRMACO
METRONIDAZOL**

São Luís – MA

2021

LETICIA NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS À BASE DE MESOCARPO DE BABAÇU E
ALGINATO DE SÓDIO COMO MATRIZ CARREGADORA DO FÁRMACO
METRONIDAZOL**

Trabalho de pesquisa apresentado ao programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sirlane Aparecida Abreu Santana

São Luís – MA

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Oliveira, Leticia Nascimento de.

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS À BASE DE MESOCARPO DO
BABAÇU E ALGINATO DE SÓDIO COMO MATRIZ CARREGADORA DO
FÁRMACO METRONIDAZOL / Leticia Nascimento de Oliveira. -
2021.

93 f.

Orientador(a): Sirlane Aparecida Abreu Santana.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
MA, 2021.

1. Carboximetilação do amido. 2. Liberação de
fármaco. 3. Mesocarpo do babaçu. 4. Misturas
poliméricas. I. Santana, Sirlane Aparecida Abreu. II.
Título.

LETÍCIA NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS À BASE DE MESOCARPO DE BABAÇU E
ALGINATO DE SÓDIO COMO MATRIZ CARREGADORA DO FÁRMACO
METRONIDAZOL**

Trabalho apresentado ao programa de Pós-graduação
em Química da Universidade Federal do Maranhão
como requisito como requisito para obtenção do título
de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Sirlane Aparecida Abreu Santana

DEQUI - UFMA

Prof.^a Dr.^a Ana Clécia Santos de Alcantara

DEQUI - UFMA

Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha

PPGBiotec - UFDPAR.

Dedico este trabalho aos meus pais Genésio e Lenir e ao meu irmão Thiago, pelo incentivo, apoio e por acreditarem nos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida que me concedeu, pelas bênçãos e pela força para superar todos os obstáculos que surgiram durante esse processo. Chegar até aqui foi resultado da sua infinita bondade.

Aos meus pais, Genésio e Lenir Oliveira, que sempre me impulsionaram a correr atrás dos meus objetivos e viram em mim um potencial que eu mesma desconhecia. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos e por fazer jus a importância de viver 1 Coríntios 13-7. Amo vocês incondicionalmente.

Ao meu irmão Thiago pelo companheirismo e cumplicidade em todos esses anos.

À professora Dr^a Sirlane Santana pela orientação e por confiar a mim esse projeto. Agradeço pela compreensão, apoio e principalmente pela paciência.

À todos os colegas e amigos do LIM pela companhia, apoio durante a realização desta pesquisa e por todas xícaras de café que eram essenciais para não deixar o desespero dominar. Em especial, quero agradecer a Liane, Lucas, Mauro, Rayan e Tyron pelo acolhimento e pelos incontáveis momentos de alegria como as “Piadas Mauro” e o momento “Coach do fracasso”. Quero agradecer infinitamente pelo bom convívio e por esses momentos tão singulares.

As minhas amigas de turma, Andressa e Elenilse por todo o apoio, pelas longas conversas instrutivas e por todas as palavras de incentivo. Quero agradecer ao Jhonilson pela amizade e camaradagem, e principalmente, por ter se tornado o irmão de uma outra mãe.

Aos meus amigos de Mãe do Rio, Grajaú e São Luís, quero agradecer a todos de modo geral. Aos de Mãe do Rio e Grajaú pela amizade que sempre esteve presente independente da distância e por ficarem felizes pelas minhas realizações pessoais. Aos meus amigos de São Luís que foram presentes de Deus, nunca saberei agradecer por tamanha dádiva. Agradeço por terem aberto as portas das vossas casas e de seus corações. Meu muito obrigada por tudo o que vivemos juntos.

Aos professores do PPGQUIM o qual tive o enorme prazer de ser aluna. Agradeço por todo o conhecimento compartilhado que foram de suma importância para a realização desse trabalho.

À UFMA por nos proporcionar a oportunidade de crescer academicamente e pessoalmente.

À Central Analítica de Química da UFMA pelas análises de FTIR e DSC.

Ao Laboratório de Biomateriais em Odontologia do Maranhão do Departamento de Odontologia – UFMA

À FAPEMA pela concessão da bolsa de estudo que foi fundamental para a realização desse trabalho.

O meu sincero agradecimento a todos que contribuíram diretamente, indiretamente para a realização desse trabalho.

“Aprender uma lição sem dor não tem significado, isso porque as pessoas não conseguem obter nada sem sacrificar alguma coisa, mas quando elas superam as dificuldades e conseguem o que querem, as pessoas conquistam um coração que não perde pra nada. É... um coração forte como o aço.”

(Fullmetal Alchemist: Brotherhood)

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar esferas à base de alginato de sódio e amido extraído do mesocarpo do babaçu como uma matriz para a liberação controlada do fármaco metronidazol. O amido foi obtido pelo método de extração em água e o mesmo foi sintetizado o ácido cloroacético como agente eterificante, resultado em carboximetilamidos com graus de substituição (GS) de $0,15 \pm 0,01$ e $0,3 \pm 0,01$. O estudo de solubilidade e intumescimento das amostras do amido e carboximetilamido mostraram mudanças nas propriedades após a modificação. O estudo do teor amilose do amido nativo e modificado, utilizando método colorimétrico apresentou uma grande variação no teor de amilose, de $28,0 \pm 0,89$, $4,70 \pm 0,21$ e $3,32 \pm 0,04$, comprovando a redução da macromolécula após a modificação. As amostras de amido e carboximetilamido foram caracterizadas por FTIR, MEV e DSC. O fármaco metronidazol foi incorporado as matrizes poliméricas de alginato de sódio/amido do mesocarpo do babaçu e alginato de sódio/carboximetilamido, obtendo esferas através da gelificação ionotrópica em uma solução de CaCl_2 . A interação entre os polissacarídeos e a incorporação do fármaco foram comprovadas pelos resultados do FTIR e MEV. A análise por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) possibilitou a detecção de elementos como Ca, Na, Cl e O, bem como as alterações percentuais ocorridas após a mistura polimérica. Um estudo de absorção molecular na região do ultravioleta comprovou a presença do fármaco metronidazol incorporado nas esferas. O estudo de intumescimento e erosão das esferas mostrou que a capacidade de absorção das esferas foi melhorada nas esferas contendo o CMA, que também influenciou na erosão que foi diminuída com o aumento do grau de substituição do amido aniônico. A eficiência de encapsulamento (EE) variou de acordo com a composição das esferas. Nas esferas de alginato e alginato/amido *in natura* a EE foi $36,0\% \pm 5,40$ e $53\% \pm 4,23$ e para as esferas de alginato/carboximetilamido, a EE obtida foi $69,57\% \pm 3,94$ e $73,89\% \pm 5,22$. Os ensaios de liberação demonstraram que em meio gástrico, as esferas apresentaram uma baixa taxa de dissolução, sugerindo uma gastrorresistência em pH baixo. Em meio entérico simulado, as amostras de ALG.CMA2 (GS = 0,3) manteve a mesma taxa de dissolução até o término do experimento, sugerindo um controle na liberação do metronidazol. Dessa forma foi possível comprovar que as amostras contendo carboximetilamido são sistemas de entregas promissores para a liberação sustentada da droga em condições gastrointestinais.

PALAVRAS CHAVE: Misturas poliméricas, Mesocarpo do babaçu, carboximetilação do amido, liberação de fármaco.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate spheres based on sodium alginate and starch extracted from babassu mesocarp as a matrix for the controlled release of the drug metronidazole. The starch was obtained by water extraction method and the same was synthesized using chloroacetic acid as etherifying agent, resulting in carboxymethylamides with degrees of substitution (GS) of 0.15 ± 0.01 and 0.3 ± 0.01 . The solubility and intumescence study of the starch and carboxymethylamide samples showed changes in the properties after modification. The study of amylose content of native and modified starch using colorimetric method showed a large variation in amylose content, from 28.0 ± 0.89 , 4.70 ± 0.21 and 3.32 ± 0.04 , proving the reduction of the macromolecule after modification. The starch and carboxymethyl starch samples were characterized by FTIR, SEM and DSC. The drug metronidazole was incorporated into sodium alginate/ babassu mesocarp starch and sodium alginate/carboxymethyl starch polymeric matrices, obtaining spheres through ionotropic gelation in a CaCl_2 solution. The interaction between the polysaccharides and the incorporation of the drug were proven by FTIR and SEM results. Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) analysis enabled the detection of elements such as Ca, Na, Cl and O, as well as the percentage changes that occurred after polymer mixing. A molecular absorption study in the ultraviolet region proved the presence of the drug metronidazole incorporated in the spheres. The study of intumescence and erosion of the spheres showed that the absorption capacity of the spheres was improved in the spheres containing the CMA, which also influenced the erosion that was decreased with the increase in the degree of substitution of the anionic starch. The encapsulation efficiency (EE) varied according to the composition of the spheres. For the alginate and alginate/raw starch spheres the EE was $36.0\% \pm 5.40$ and $53\% \pm 4.23$ and for the alginate/carboxymethyl starch spheres, the EE obtained was $69.57\% \pm 3.94$ and $73.89\% \pm 5.22$. The release assays demonstrated that in gastric medium, the spheres showed a low dissolution rate, suggesting gastroresistance at low pH. In simulated enteric medium, the ALG.CMA2 samples (GS = 0.3) maintained the same dissolution rate until the end of the experiment, suggesting a control in the release of metronidazole. Thus, it was possible to prove that the samples containing carboxymethyl starch are promising delivery systems for the sustained release of the drug under gastrointestinal conditions.

KEY WORDS: Polymeric mixtures, babassu mesocarp, starch carboxymethylation, drug release.

Lista de Abreviaturas e Siglas

AMB	Amido do mesocarpo do babaçu
CMA	Carboximetilamido
ALG3%	Esferas de alginato de sódio
ALG.AMB	Esferas de alginato/amido <i>in natura</i>
ALG.CMA1	Esferas de alginato/carboximetilamido (GS = 0,15)
ALG.CMA2	Esferas de alginato/carboximetilamido (GS = 0,3)
AMAC/AMB	Proporção ácido monocloroacético/amido do mesocarpo
DDS	<i>Drug Delivery Systems</i>
EE	Eficiência de encapsulamento
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho
GS	Grau de substituição
MTZ	Metronidazol
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

Lista de Figuras

Figura 1. Comparação das variações de concentração de fármacos administrados pelo método de liberação convencional e liberação controlada.	23
Figura 2. Comparação das variações de concentração de fármacos administrados pelo método de liberação convencional e liberação controlada.	23
Figura 3. Esquema ilustrativo dos processos de intumescimento, difusão e erosão durante a liberação de fármacos a partir de sistemas matriciais poliméricos hidrofílicos.	25
Figura 4. Palmeira do Babaçu (<i>Orbignya phalerata</i> Mart.).	26
Figura 5. Partes do coco babaçu e suas respectivas quantidades em porcentagem.....	27
Figura 6. Estruturas das macromoléculas de a) Amilose e b) Amilopectina.	29
Figura 7. Mecanismo da carboximetilação do amido pelo método Williamson.	32
Figura 8. Estrutura em blocos dos ácidos (a) D-manurônico; (b) L-gulurônico e (c) sequência alternada dos ácidos M e G.....	33
Figura 9. Desenho esquemático do modelo eggs-box para formação de gel de alginato pela reticulação com íons Ca^{2+}	34
Figura 10. Estrutura molecular do fármaco metronidazol.....	36
Figura 11. Esquema do meio reacional da modificação do amido por eterificação.....	40
Figura 12. Representação esquemática das etapas utilizadas na preparação das esferas de ALG, ALG.AMB e ALG.CMA.....	43
Figura 13. Representação esquemática das etapas utilizadas na preparação das esferas de ALG, ALG.AMB e ALG.CMA.....	43
Figura 14. Gráficos referentes ao grau de a) intumescimento e b) solubilidade do AMB e CMA1 e CMA2.	49
Figura 15. Espectro do alginato de sódio na região do infravermelho.....	51
Figura 16. Espectros de infravermelho de: a) amido in natura extraído do mesocarpo do babaçu e b) e c) amidos carboximetilados com diferentes quantidades de ácido monocloroacético. ...	52
Figura 17. Micrografias obtidas por MEV do amido extraído do mesocarpo do babaçu com a) ampliação de 500x e b) ampliação de 2000x.....	53
Figura 18. Micrografias obtidas por MEV do amido carboximetilado (CMA1) com a) ampliação de 1000x e b) ampliação de 2000x.....	54
Figura 19. Micrografias obtidas por MEV do amido carboximetilado (CMA2) com a) ampliação de 1000x e b) ampliação de 2000x.....	54
Figura 20. Curvas DSC do AMB e CMA (GS: 0,3).....	55

Figura 21. Espectro de absorção UV-Vis do metronidazol em HCl 0,1 mol.L ⁻¹ pH 1,2.	57
Figura 22. Espectro de absorção UV-Vis do metronidazol em tampão fosfato 0,05 mol.L ⁻¹ pH 7,4.	57
Figura 23. Resposta analítica do fármaco metronidazol em HCl 0,1 mol.L ⁻¹ pH 1,2, n=3.	58
Figura 24. Resposta analítica do fármaco metronidazol em tampão fosfato 0,05 mol.L ⁻¹ pH 7,6, n=3.	58
Figura 25. Espectro do metronidazol na região do infravermelho.	59
Figura 26. Espectros de ALG3%, ALG.AMB, ALG.CMA1 e ALG.CMA2 na região do infravermelho.	60
Figura 27. Faixa espectral reduzida entre 1200 cm ⁻¹ e 2000 cm ⁻¹	61
Figura 28. Espectros de absorção do fármaco Metronidazol presente nas esferas poliméricas.	62
Figura 29. Micrografias obtidas por MEV das esferas de a) ALG3% com ampliação de 50x e 1000x e das esferas de b) ALG.AMB com ampliação de 50x e 1000x.	63
Figura 30. Micrografias obtidas por MEV das esferas de a) ALG.CMA1 com ampliação de 50x e b) 1000x e das esferas de c) ALG.CMA2 com ampliação de 50x e d) 1000x.	64
Figura 31. Gráfico dos resultados da análise de EDS das amostras de a) ALG3%, b) ALG.AMB, c) ALG.CMA1 e d) ALG.CMA2.	65
Figura 32. Comportamento do grau de inchaço das esferas de ALG, ALG.AMB, ALG/CMA1 e ALG/CMA2 em HCl 0,1 M pH 1,2.	66
Figura 33. Comportamento do grau de inchaço das esferas de ALG, ALG.AMB, ALG/CMA1 e ALG/CMA2 em Tampão fosfato 0,05 M pH 7,4.	67
Figura 34. Perfil de liberação das esferas em meio gástrico simulado.	71
Figura 35. Perfil de liberação das esferas em meio entérico simulado.	72

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição das matrizes poliméricas de ALG3%, ALG.AMB e ALG.CMA, de acordo com o Grau de Substituição (GS), com o fármaco incorporado.....	44
Tabela 2. Efeito da razão molar AMCA/AMB no grau de substituição do amido carboximetilado.	48
Tabela 3. Teor de amilose do AMB, CMA1 e CMA2.....	50
Tabela 4. Valores da taxa de erosão das esferas poliméricas após imersão em meio entérico simulado.	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1.	Sistema de Liberação Controlada	23
2.2.	Matrizes Poliméricas	24
2.3.	Mesocarpo do babaçu.....	26
2.3.1.	<i>Amido.....</i>	28
2.4.	Carboximetilação do amido.....	31
2.4.	Alginato de sódio.....	33
2.5.	Misturas poliméricas: amido e alginato de sódio.....	35
2.6.	Metronidazol	36
3	OBJETIVOS	38
3.1	Objetivo Geral	38
3.2	Objetivos Específicos.....	38
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	39
4.1.	Materiais e Reagentes.....	39
4.2.	Extração do amido do mesocarpo do babaçu	39
4.3	Modificação do amido por carboximetilação	39
4.4.	Propriedades físico-químicas e funcionais do amido <i>in natura</i> e carboximetilamido	40
4.4.1.	<i>Determinação do Grau de Substituição</i>	40
4.4.2.	<i>Estudo de Solubilidade e Intumescimento</i>	41
4.4.3.	<i>Determinação do teor de amilose.....</i>	41
4.5	Caracterização do fármaco Metronidazol (MTZ).....	42
4.5.1.	<i>Determinação da banda de absorção do MTZ na região do ultra-violeta (UV)</i>	42
4.5.2.	<i>Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia na região do UV.....</i>	42
4.6.	Preparação das matrizes poliméricas	42

4.6.1. Preparação das esferas de Alginato/Amido e Alginato/Carboximetilamido contendo o fármaco metronidazol	42
4.6.2. Estudo de intumescimento das esferas	44
4.6.3. Análise de erosão	44
4.7. Caracterização dos materiais	45
4.7.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ...	45
4.7.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	45
4.7.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	46
4.7.4. Espectroscopia de Absorção Molecular.....	46
4.8. Eficiência de Encapsulamento (EE).....	46
4.9. Estudo de liberação <i>in vitro</i>	47
4.9.1. Perfil de liberação em meio gástrico simulado.....	47
4.9.2. Perfil de liberação em meio entérico simulado.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1. Propriedades físico-químicas e funcionais do amido <i>in natura</i> e carboximetilamido	48
5.2.1. Determinação do grau de substituição.....	48
5.2.2. Estudo de solubilidade e intumescimento.....	49
5.2.3. Teor de amilose	50
5.2. Caracterização do alginato de sódio, amido nativo e carboximetilamido	50
5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	50
5.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	53
5.2.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	55
5.3. Caracterização do fármaco Metronidazol.....	56
5.3.1. Determinação da banda de absorção do MTZ na região do ultra-violeta (UV)	56

5.3.2. Curva analítica para quantificação do metronidazol por espectroscopia na região do UV.....	57
5.3.3. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	59
5.4. Caracterização das esferas carregadas com metronidazol	59
5.4.1. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	59
5.4.2. Espectroscopia de absorção molecular.....	62
5.4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	62
5.4.4. Espectroscopia Por Dispersão De Energia (EDS)	65
5.5. Análise de intumescimento das esferas	66
5.6. Análise de erosão das esferas	68
5.7. Eficiência de encapsulamento (EE).....	69
5.8. Liberação <i>in vitro</i> do fármaco Metronidazol	70
5.8.1. Perfil de liberação em meio gástrico simulado.....	70
5.8.2. Perfil de liberação em meio entérico simulado.....	71
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos medicamentos tem avançado constantemente, objetivando um progresso nas ações profiláticas, terapêuticas e diagnósticas. Dentre essas melhorias, enquadra-se o sistema de liberação controlada e a busca por formulações com uma entrega ideal, dosagem pré-determinada à uma velocidade específica e que seja capaz de carrear o princípio ativo até ao local de tratamento (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; RAUT *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019).

Diante das falhas nas entregas convencionais, os excipientes à base de polímeros naturais passaram a ser objetos de estudos, com intuito de diminuir as deficiências durante a administração, como a ineficiência na distribuição e a liberação imediata no organismo (FREIBERG; ZHU, 2004; ZHANG *et al.*, 2019).

Os polímeros naturais apresentam propriedades importantes como biocompatibilidade, biodegradabilidade, afinidade biológica e atoxicidade, além de serem encontrados em abundância na natureza, sendo obtidos de fontes renováveis através de processos de baixo custo (HUO *et al.*, 2016; LEONIDA; ISPAS-SZABO; MATEESCU, 2018; MENEGUIN *et al.*, 2020).

Dentre os polímeros naturais, encontra-se a classe dos polissacarídeos, que são macromoléculas compostas por longas cadeias de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas, sendo considerado o grupo mais abundante na biomassa e que podem ser encontrados em algas, vegetais, animais e em micro-organismos (PENG *et al.*, 2018; ZHENG *et al.*, 2020).

Polissacarídeos como quitosana (FERRARI *et al.*, 2013; DOZIE-NWACHUKWU *et al.*, 2017), pectina (GÜNTNER; POPEYKO, 2016), amido (CHEN *et al.*, 2018; QUEIROZ *et al.*, 2020), alginato (CHANG *et al.*, 2012; THOMAS; MATHEW; NATH, 2021), celulose e seus derivados (ALMEIDA *et al.*, 2014; KUMAR VARMA *et al.*, 2016; MENEGUIN *et al.*, 2020) e ácido hialurônico (SAHINER; SUNER; AYYALA, 2019) têm sido usados em diversas aplicações biomédicas como veículos de entrega de medicamentos.

Dentre esses, o alginato de sódio e amido têm sido amplamente utilizados por serem formadores de hidrogéis, que por absorverem uma grande quantidade de água, incham e se tornam promissores devido a dispersão do agente ativo na matriz, proporcionando um alto controle de liberação, além de apresentarem flexibilidade e maciez, semelhante a um tecido vivo (FERNANDES *et al.*, 2017; FELTRE *et al.*, 2020).

Misturas de alginato de sódio e amido têm sido empregados na produção de esferas ou *beads* (CHAN *et al.*, 2011; LOZANO-VAZQUEZ *et al.*, 2015; BISWAS; SAHOO, 2016) pois a combinação entre os biopolímeros supre as deficiências que cada um apresenta individualmente, melhorando o desempenho dos sistemas (FELTRE *et al.*, 2020).

O alginato é um polissacarídeo aniônico linear, extraído de algas marinhas marrons, constituído pelos monômeros α -L-gulurônico e β -D-manurônico, podendo ser obtido na forma de alginato de sódio. Apresenta compatibilidade biológica, solubilidade em água, viscosidade e gelificação a partir de reticulação física na presença de cátions divalentes (SANCHEZ-BALLESTER *et al.*, 2019; VARAPRASAD *et al.*, 2020).

Uma das técnicas utilizadas para a produção de esferas de alginato é a extrusão, também conhecida como gelificação ionotrópica, que ocorre a partir do gotejamento da dispersão de alginato de sódio em banho de cloreto de cálcio (UYEN *et al.*, 2020). A interação entre os íons Ca^{2+} e os carboxilatos dos ácidos α -L-gulurônico formam a matriz a partir de ligações cruzadas, aproximando os blocos G paralelamente, resultando em uma estrutura conhecida como *eggs-box* (mecanismo “caixa de ovos”) (FERNANDES; MOURA; AOUADA, 2017; KHLIBSUWAN; TANSENA; PONGJANYAKUL, 2018; DHAMECHA *et al.*, 2019).

No entanto, materiais à base de alginato apresentam uma estrutura porosa devido à alta permeabilidade e hidrofília do polímero, o que ocasiona uma liberação precoce dos fármacos, resultando em uma baixa eficiência de aprisionamento (LOZANO-VAZQUEZ *et al.*, 2015). A inserção de amido apresenta um controle na desintegração do alginato, atuando como preenchimento, melhorando as propriedades da matriz e controlando a liberação (BISWAS; SAHOO, 2016).

O amido é um dos polissacarídeos mais abundante do mundo e a principal reserva de energia das plantas, ocorrendo em sementes, raízes e tubérculos. Sua estrutura granular semicristalina é composta por dois biopolímeros, amilose (ligação linear α -1,4) e a amilopectina (ligação ramificada α -1,6) (DENARDIN; SILVA, 2009; AMAGLIANI *et al.*, 2016; QUEIROZ *et al.*, 2020).

Essa estrutura semicristalina é responsável pelo aumento do intumescimento e solubilidade do amido nativo quando aquecidos em excesso de água, implicando em desvantagens como baixa estabilidade, hidrólise na presença de ácidos gástricos e rápida degradação enzimática, tornando sua aplicação inadequado para a preparação de formulações de uso oral (MASSOUMI; MOZAFFARI; JAYMAND, 2018; JIANG *et al.*, 2019). Por isso, a

modificação do amido é uma opção favorável que proporciona melhorias para a entrega de medicamentos.

Dentre as modificações, o amido carboximetilado por eterificação tem sido bastante utilizado na produção de excipientes. A inserção do grupo carboximetila ($-\text{CH}_2\text{COOH}$) à espinha dorsal do amido nativo garante novas propriedades como hidratação, gelatinização e solubilidade em água fria, estabilidade de armazenamento, gastroresistência e mucoadesividade, características importantes para o transporte de fármacos, como já foi evidenciado em produção de excipientes para entrega ao cólon (SABOKTAKIN *et al.*, 2011; MIHAELA FRICIU *et al.*, 2013).

Uma fonte rica em amido é o mesocarpo do babaçu extraído a partir do esmagamento do coco babaçu. O mesocarpo corresponde a 20% do fruto e é composto por 60 % de amido. É usada para fins terapêuticos que, de acordo com o conhecimento popular, apresenta atividade anti-inflamatória, antitumoral, cicatrizante e antimicrobiana (AZEVEDO *et al.*, 2007; YULIANA *et al.*, 2012). Biomateriais à base de mesocarpo do babaçu já vêm sendo investigados como matrizes de liberação de fármacos (BARROS *et al.*, 2015; LEAL *et al.*, 2018) porém, são necessários mais estudos acerca da funcionalidade atribuída a essa farinha amilácea.

Para o estudo de liberação controlada utilizando os polissacarídeos em questão, o metronidazol foi escolhido como fármaco modelo. O Metronizadol [1- (2-Hidroxietil) -2-metil-5-nitroimidazol] é um fármaco da classe de drogas 5-nitroimidazol que possui fórmula molecular ($\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$) e peso molar de 171,15g / mol. É um medicamento que apresenta atividades antimicrobianas (parasitas e bactérias anaérobicas) e é prescrito para tratamentos de vaginose bacteriana, infecções de *Clostridium difficile* (causador da diarreia hospitalar), amebíase sintomática intestinal e extraintestinal, tricomoníase, giardíase e infecções por *H. Pylori* (ALI *et al.*, 2019; ALAUZET *et al.*, 2018).

A droga apresenta absorção máxima em 1 a 2 horas e um volume de distribuição de 0,8 L/kg, no entanto, como o metronidazol (MTZ) é absorvido rapidamente por via oral, as concentrações não são suficientes para atuarem nos sítios específicos como a região intestinal (NICHOLS, 2004).

Tal fármaco considerada tolerável, seguro e não tóxico, porém, alguns efeitos colaterais foram notificados durante o uso terapêutico, como náuseas, anorexia, vômitos e cólicas abdominais, e outras reações menos comuns como dores de cabeça, neuropatia periférica e vertigem (YAZDANI *et al.*, 2018; SILVA, 2009).

Desse modo, objetiva-se investigar a viabilidade da utilização da composição amido de mesocarpo do babaçu/alginato de sódio a partir do desenvolvimento de microesferas, como excipientes para liberação do medicamento Metronidazol de forma controlada, dispondo de uma dosagem que seja suficiente para uma ação eficaz e que diminua a ocorrência de reações adversas ao organismo.

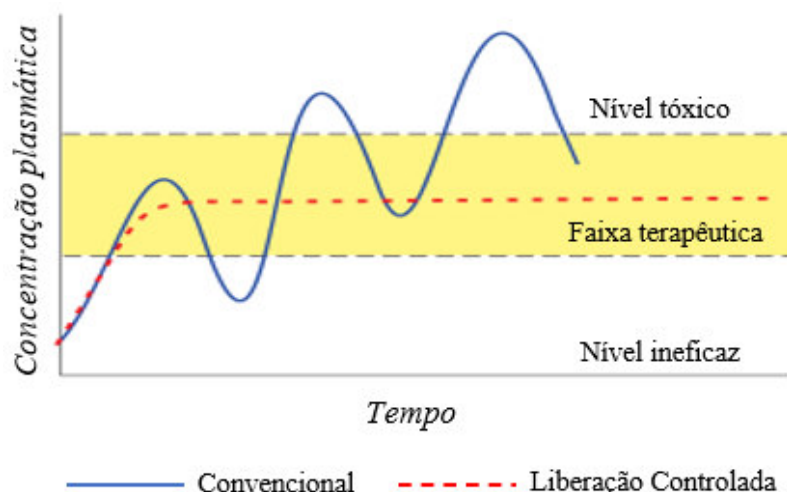
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sistema de Liberação Controlada

O Sistema de Liberação de Fármacos ou *Drug Delivery systems* (DDS) é o termo utilizado para definir o transporte de compostos ativos que serão liberados no organismo e direcionados à alvos específicos. O objetivo é transportar e manter o fármaco seguro em níveis terapêuticos, diminuindo os danos ao organismo durante o tratamento (CALORI et al, 2020).

A forma convencional tem apresentado ineficiência devido a absorção imediata do fármaco que ao atingir o nível máximo de dissolução, gera uma banda plasmática que começa a decair antes de atingir a faixa terapêutica, fazendo-se necessária a aplicação de uma nova dose (FREIBERG; ZHU, 2004; ROSSI-BERGMANN, 2008; BIZERRA; SILVA, 2016). Entretanto, a repetição da dosagem eleva a concentração do fármaco na corrente sanguínea, ultrapassando o nível terapêutico, resultando em efeitos tóxicos, como ilustrado na Figura 1 (NICOLETTI; FRASSON, 2006).

Figura 1. Comparação das variações de concentração de fármacos administrados pelo método de liberação convencional e liberação controlada.



FONTE: Adaptado de AZEVEDO (2005)

Dessa forma, formulações de liberação controlada têm sido estudadas para modulação de uma entrega ideal do fármaco, prolongando a sua ação e biodisponibilidade até o sítio de interesse, ocorrendo em um maior intervalo de distribuição (ALENCAR et al, 2018). Os

aspectos principais dessa modelagem são os controles do tempo, quantidade do princípio ativo e ação direta no local desejado. Esses fatores minimizam os efeitos colaterais a partir da capacidade de proporcionar um tratamento seletivo, mantendo o restante do organismo isento de qualquer ação indesejada (SURYA et al, 2020).

Os excipientes desempenham um papel importante no desenvolvimento de novas formulações de liberação, alterando a duração e intensidade da ação do composto químico, controlando as concentrações plasmáticas para que sejam mantidas dentro da faixa terapêutica, alcançando o perfil de liberação apropriado (CASAS; LEYVA; CARABALLO, 2015; ELDER; KUENTZ; HOLM, 2016).

A escolha do excipiente é uma etapa importante para a formulação, pois a garantia de estabilidade e biodisponibilidade depende da substância transportadora. Essa escolha deve levar em consideração o tipo de dosagem (sólida, semissólida ou líquida), direcionamento e sua compatibilidade com o princípio ativo (KUMAR; BHATIA; RAWAL, 2018).

Dentre os materiais estudados, os polímeros naturais tem apresentado resultados significativos e vantajosos devido a sua biocompatibilidade, fácil acessibilidade por serem obtidos a baixo custo e pela possibilidade de modificações em sua estrutura química a partir das interações entre os seus grupos reativos e grupos funcionais que podem ser introduzidos para melhorar a funcionalidade do material (DAUT et al, 2014; NEJATI et al, 2018; SUR et al, 2019; TONG et al, 2020).

2.2. Matrizes Poliméricas

Os Polímeros são compostos orgânicos ou inorgânicos formados por monômeros, que são pequenas moléculas que se ligam a outras substâncias monoméricas, dando origem a uma cadeia formada pela grande repetição de unidades (meros). (AKCELRUD, 2007). Podem ser classificados como naturais (polissacarídeos, proteínas, peptídeos e poliésteres) ou sintéticos (ácido polilático, policaprolactona, derivados de óleos vegetais, ácidos graxos, aminoácidos) e ambos desempenham papéis importantes a partir das suas diversas aplicações (ADELEKE, 2019; SALEH; PARTHASARATHY; IRFAN, 2019; XUE et al, 2019).

Nos últimos anos, os polímeros, em destaque os polissacarídeos, têm apresentado um grande potencial nos sistemas de transportes terapêuticos devido a características como versatilidade e fácil adaptação das suas propriedades físico-químicas e biológicas, melhoria na

farmacocinética, biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade e custo-benefício (IMPERIALE et al, 2018; SABALE et al, 2017; HUANG et al, 2019; KAVOUSI et al, 2019).

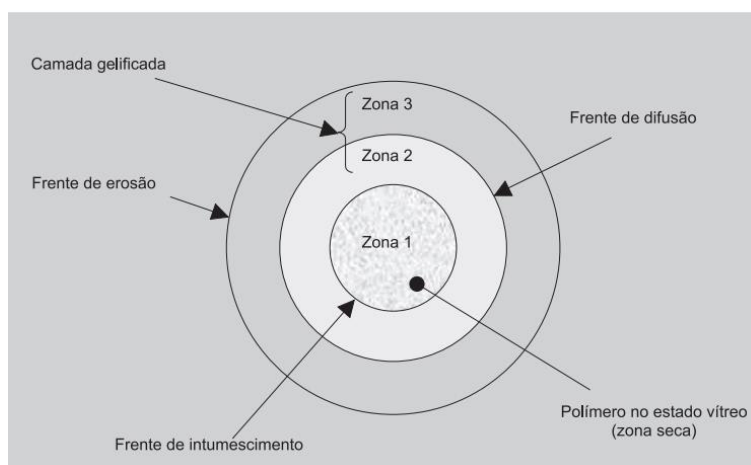
CALORI et al (2020) explica que os sistemas matriciais poliméricos são capazes de liberar o princípio ativo dentro da faixa de liberação ideal durante a terapia, além de proteger o fármaco durante a veiculação no organismo, evitando flutuações nos níveis plasmáticos e efeitos adversos que podem ser resultantes de uma liberação rápida.

Além das suas funções básicas, essas matrizes apresentam propriedades adicionais como mucoadesão, penetração no epitélio intestinal, capacidade sortiva, atividade farmacológica, mascaramento do sabor do fármaco e interação com os sistemas enzimáticos responsáveis pela transformação do medicamento em metabólitos ativos (KAROLEWICZ, 2016).

O potencial carreador de polissacarídeos tem sido investigado em várias formas de dosagens farmacêuticas, como filmes (RATHORE et al, 2019; OKUR et al, 2019), hidrogéis (WÖHL-BRUHN et al, 2012; PAULINO et al, 2012), nanopartículas (TABERNERO et al, 2017; SAMROT et al, 2018), microesferas (GAUDIO et al, 2017; ATHAMNEH et al, 2019), fibras (WANG et al, 2010; SIBAJA et al, 2015).

Durante a produção do sistema, critérios específicos devem ser levados em consideração como os mecanismos de controle da liberação que são intumescimento, difusão e erosão, ilustrado na figura 2 (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

Figura 3. Esquema ilustrativo dos processos de intumescimento, difusão e erosão durante a liberação de fármacos a partir de sistemas matriciais poliméricos hidrofílicos.



FONTE: LOPES E COLABORADORES (2005)

Esses mecanismos permitem que a matriz controle a liberação da droga no organismo. Ao entrar em contato com o meio de dissolução ou fluído biológico, o sistema absorve água e a partir dessa hidratação, a estrutura polimérica passa pelo processo de dissolução, ocorrendo uma liberação imediata do fármaco presente na superfície. Com o aumento da hidratação, ocorre o intumescimento ou relaxamento das cadeias, seguindo para a erosão, havendo o rompimento das cadeias e liberação total do fármaco ainda presente no material (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

Resumidamente, a hidratação é a ação mais importante para a dissolução do princípio ativo, pois a camada de gel formada atua como uma barreira de controle durante a liberação (ZULEGER; FASSIHI; LIPPOLD, 2002; NGO et al., 2016). Diante dessa importante propriedade, o amido e alginato de sódio têm sido usados no desenvolvimento de diferentes sistemas de liberação controlada.

2.3. Mesocarpo do babaçu

O Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) é uma palmeira oleaginosa de origem brasileira, que está entre as espécies mais exploradas pela indústria extrativista, por apresentar um grande valor comercial e viabilidade econômica devido ao aproveitamento total da planta (SOLER; VITALI; MUTO, 2007; COSTA, 2014).

Figura 4. Palmeira do Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.).



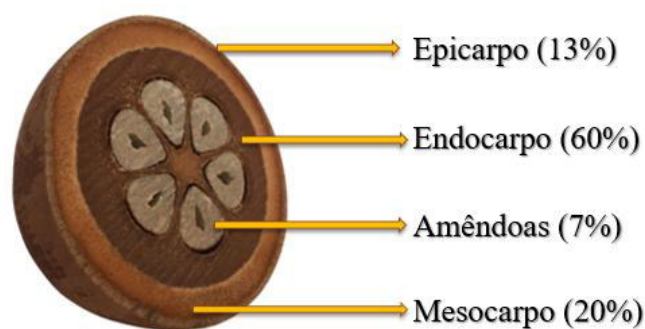
Fonte: AUTORAL (2021)

Dos 18,4 milhões de hectares ocupados pela palmeira, com maior predominância nos estados do Pará, Tocantins, Piauí e Maranhão, 10,3 milhões estão situados no Maranhão, considerado o estado com a maior atividade extrativista do coco babaçu, sendo em torno de 90% da safra nacional (GERMER, 2013; CARVALHO, 2019).

Os quebradores de coco, grupo composto em sua maioria por mulheres, são os principais responsáveis pela coleta do fruto e retirada das amêndoas a extração de óleo láurico, aplicado à produção de cosméticos, sabão e lubrificantes (TEIXEIRA, 2008; SOUZA *et al.*, 2011).

O fruto conhecido como coco babaçu apresenta um formato elipsoidal, medindo de 5 a 15 cm com um diâmetro que varia de 3 a 8 cm, chegando a pesar entre 90 g e 280 g. O coco babaçu é composto por 4 partes diferentes: epicarpo (11%), mesocarpo (23%), endocarpo (59%) e as amêndoas (7%) que é a principal parte por ser a mais explorada para (AMARAL *et al.*, 2019; CARVALHO, 2019). Além dos grãos, outras partes do fruto, como o mesocarpo, também são exploradas e usadas como fonte de energia, alimentação ou aplicação para fins terapêuticos.

Figura 5. Partes do coco babaçu e suas respectivas quantidades em porcentagem



Fonte: AUTORAL (2021)

O mesocarpo é o intermediário fibroso, geralmente transformado em uma farinha amilácea através de processamentos de secagem e trituração, sendo amplamente comercializado no Maranhão como ração animal (LOPES *et al.*, 2020). A composição do mesocarpo consiste em 66,51% de amido, 6,8% de fibra, 1,19% de proteína, 0,29% de extrato etéreo, sendo esses valores variados de acordo com a sua origem e apresenta uma coloração marrom resultante da presença de taninos (LOPES *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2020). Em estudos químicos, Maniglia e Tapia-Blácido (2016) determinaram a presença de compostos como taninos,

açúcares, saponinas, esteróides, triterpenos. A farinha também apresentou propriedades antioxidantes pela presença de compostos fenólicos.

Além do consumo como complemento alimentar, o mesocarpo é empregado para fins medicinais, usado popularmente no tratamento de cólicas menstruais, constipação, obesidade, reumatismo, úlceras, leucemia, tumores, doenças inflamatórias e venosas (AZEVEDO *et al.*, 2007).

Estudo encontrado na literatura reportaram a atividade antiulcerogênica do mesocarpo do babaçu foi verificada por Torres e colaboradores (2018) que ao comparar com o fármaco omeprazol, usado no tratamento de gastrite e úlcera, o extrato apresentou efeitos gastroprotetores, protegendo contra a formação de hiperemia da mucosa, com resultados mais satisfatórios que os do medicamento padrão. Esses dentre outros estudos puderam comprovar cientificamente a eficácia da farinha com base nos conhecimentos empíricos.

Uma pesquisa recente (SILVA *et al.*, 2021) considerou a farinha do mesocarpo do babaçu como alternativa nutricional no aporte imunológico e no combate a síndrome inflamatória causada pelo Coronavírus SARS-CoV-2. A composição rica em vitamínicos e minerais torna-o uma opção alimentar no tratamento anti-inflamatório e antioxidante, principalmente pela presença de taninos, que segundo um estudo *in vitro* de taninos presentes em vinhos tintos realizado pela China Medical University em Taiwan, foi possível verificar que o polifenol apresentou inibição de enzimas do Coronavírus, controlando o aumento da carga viral. Assim, os autores consideraram a importância da farinha do mesocarpo para a prevenção e/ou tratamento efetivo da Covid-19 devido à grande quantidade de taninos presente.

Além das propriedades medicinais, alguns trabalhos investigaram a atividade como material adsorvente modificado para remoção de cátions divalentes em águas residuais (SANTANA *et al.*, 2010; NASCIMENTO; OLIVEIRA; LEITE, 2019), adsorção de corantes têxteis de solução aquosa (VIEIRA *et al.*, 2009; VIEIRA *et al.*, 2011) e como matriz de liberação controlada do ácido tânico (LEAL *et al.*, 2018).

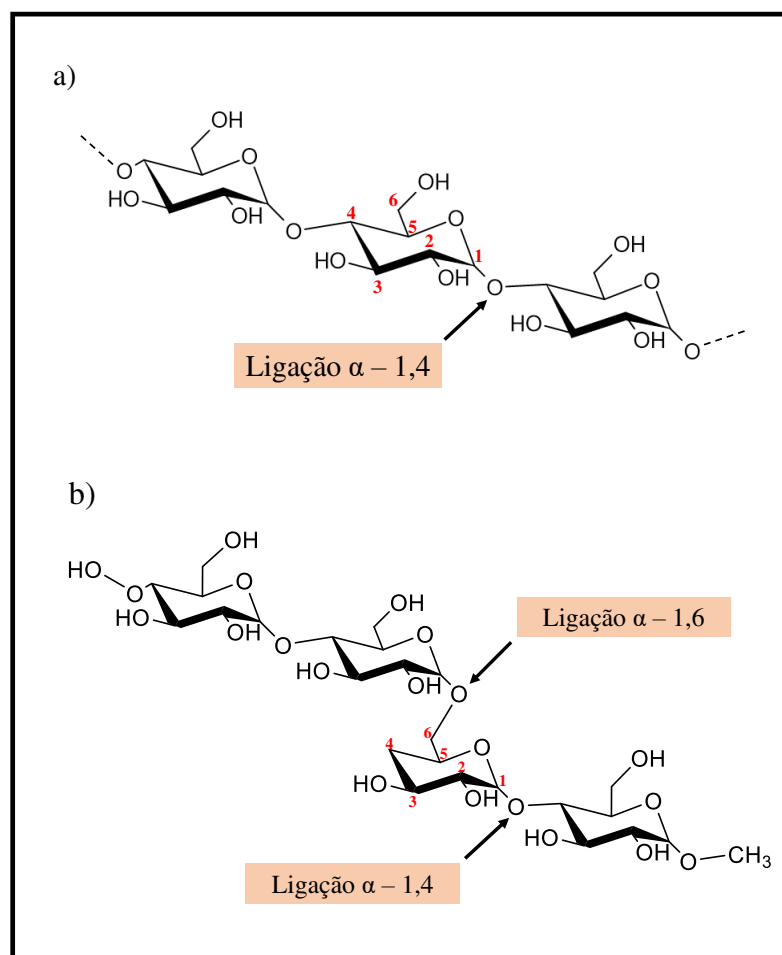
2.3.1. Amido

O amido compõe a maior parte da composição do mesocarpo, em torno de 50 a 70%, dependendo da espécie da palmeira e maturidade dos frutos (SARAIVA RODRIGUES *et al.*, 2020). É o segundo polissacarídeo encontrado em abundância na natureza, depois da celulose. É produzido pela maioria das plantas para armazenamento de energia, sendo o polímero natural

mais consumido pelos humanos e sua utilização é ampla em indústrias de alimentos, embalagens, produção de filmes comestíveis e como excipiente farmacêutico (FARRAG *et al.*, 2018).

O biopolímero é constituído por amilose e amilopectina (Figura 5), macromoléculas que apresentam características distintas. A amilose é uma macromolécula de cadeia linear constituída por várias unidades de D-glicose unidas por ligação α -1,4'- glicosídica, enquanto a amilopectina é caracterizada por sua estrutura ramificada, com cadeias de D-glicose, unidas por ligação α -1,4'- glicosídica, formando cadeias curtas que ligam as cadeias lineares por meio de ligação α -1,6'- glicosídica. (WARREN *et al.*, 2011; BASTOS ARARUNA *et al.*, 2020).

Figura 6. Estruturas das macromoléculas de a) Amilose e b) Amilopectina.



Fonte: AUTORAL (2021)

O amido apresenta uma organização granular semicristalina, a estrutura dos grânulos é formada por múltiplas camadas chamadas de anéis de crescimento concêntricos. Esses anéis

contêm regiões cristalinas e amorfas, de maior e menor densidade, organizados alternadamente. As camadas cristalinas são formadas por cadeias de amilopectina empacotadas enquanto as camadas amorfas, menos ordenadas, são compostas por pontos de ramificação da amilopectina e moléculas de amilose. (COPELAND *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2013; DENARDIN; SILVA, 2009; CARVALHO, 2019).

A característica estrutural do amido exerce uma grande importância com relação as suas propriedades. O amido nativo apresenta insolubilidade em água fria, no entanto, quando aquecido em uma suspensão de água em excesso, sofre uma mudança físico-química conhecida por gelatinização, que ocorre pelo rompimento da estrutura cristalina, permitindo a interação entre a água e a cadeia polimérica (BIDUSKI *et al.*, 2018). O inchaço granular do amido apresenta um grande impacto como matriz na administração de drogas.

Queiroz *et al.*, (2020) explica que sistemas à base de amido permitem o controle da liberação pelo inchaço da matriz, se degrada ao longo do tratamento, permitindo que o princípio seja liberado em pequenas doses por um longo tempo, diminuindo os efeitos adversos. Chan *et al.*, (2019) comprovaram que o índice de inchaço contribuiu para a liberação sustentada de paracetamol para entrega bucal através de biofilmes de amido do arroz, dificultando a difusão do fármaco que passa a ser liberado ao meio por dissolução de acordo com o aumento do intumescimento da cadeia polimérica.

Outras propriedades como biocompatibilidade, acessibilidade, atoxicidade e fácil digestão, torna o amido um potencial candidato à excipiente, por isso são encontrados diversos trabalhos na literatura referente a sua aplicação como sistema de entrega de fármaco várias formas de dosagens como filmes (PATIL; MAHAJAN, 2021), micropartículas (CHEN *et al.*, 2018; QUADRADO; FARJADO, 2018) e microesferas (PUNCHA-ARNON *et al.*, 2020).

O amido do mesocarpo do babaçu (AMB) tem sido usado na produção de materiais com o intuito de avaliar suas propriedades funcionais. Maniglia *et al.*, (2018) produziram filmes plastificados à base de AMB. Os resultados mostraram que o processo de extração utilizado garantiu a integridade da composição do amido, o que influenciou nas propriedades mecânicas do material, como resistência, baixa solubilidade, impermeabilidade. Os filmes também apresentaram atividade antioxidante devido à quantidade de compostos fenólicos totais, podendo ser usado na produção de embalagem de alimentos sensíveis à oxidação. Um estudo posterior foi realizado por Rodrigues *et al.*, (2020) que investigou as características químicas, térmicas e morfológicas do amido do mesocarpo do para aplicações de embalagens de alimentos

e seus resultados corroboraram com os dos autores citados anteriormente, viabilizando o potencial do AMB como material biodegradável.

No entanto, o AMB permanece inexplorado quanto a aplicação como matriz carreadora de fármaco por via oral.

Dependendo da aplicabilidade e meio de dissolução, o amido apresenta limitações na sua forma nativa, por isso, propriedades como fluidez, gelatinização, viscosidade, hidrofobicidade e intumescimento podem ser melhorados com a modificação química do polissacarídeo (LEFNAOUI; MOULAI-MOSTEFA, 2015; MASINA *et al.*, 2017). Outra opção para melhoria das características do material é a adição de um segundo polímero, constituindo um novo material com propriedades específicas e necessárias (EASTWOOD *et al.*, 2005). Assim, a carboximetilação do amido do mesocarpo e a produção de esferas a partir de misturas poliméricas com alginato de sódio pode resultar em sistemas promissores para liberação de fármaco na região do trato gastrointestinal.

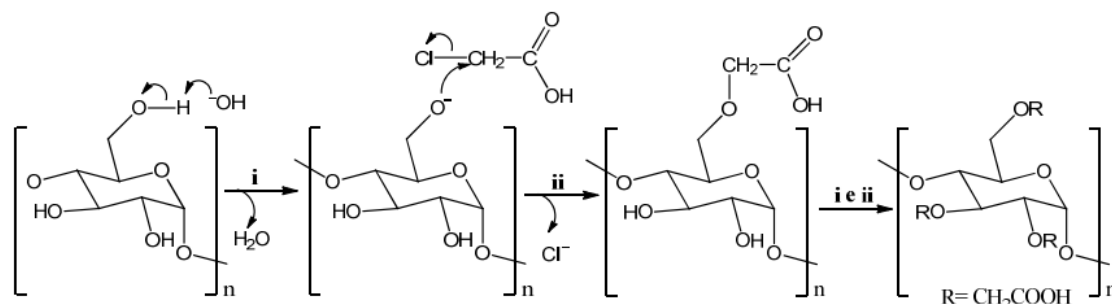
2.4. Carboximetilação do amido

A modificação química é o método mais explorado, permitindo o aperfeiçoamento e introdução de propriedades essenciais para o desenvolvimento do excipiente, maximizando sua funcionalidade. Os três grupos hidroxila (OH^-) livres nos carbonos C2, C3 e C6 são os alvos para o processo, modificados quimicamente por esterificação, eterificação e oxidação (MASINA *et al.*, 2017).

A carboximetilação é um processo de eterificação que permite a obtenção de um derivado de amido mediante a substituição da OH^- pelo grupo carboximetila ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), resultando em um amido aniônico, como apresentado na figura 6 (ASSAD; MATEESCU, 2010; LEMIEUX; GOSSELIN; MATEESCU, 2015).

A modificação ocorre através da reação proposta por Alexander Williamson (1985). Quando o amido nativo é adicionado a um meio alcalino ocorre a ativação do polissacarídeo, pois bases fortes como o hidróxido de sódio aumenta a nucleofilicidade dos grupos hidroxilas ($-\text{OH}$). Dessa forma, onde as hidroxilas são convertidas em íon alcóxido que reage com ácido monocloroacético, eliminando o íon cloreto e formando o carboximetilamido através da reação nucleofílica biomolecular (CAI *et al.*, 2020; LEMOS *et al.*, 2021; POORESMAEIL; NAMAZI, 2021).

Figura 7. Mecanismo da carboximetilação do amido pelo método Williamson.



FONTE: RIUL (2013)

O carboximetilamido (CMA) pode apresentar diferentes graus de substituição (GS) dependendo da quantidade ácido monocloroacético. O GS é descrito como o número de grupos carboximetila por unidade de glicose. Como cada unidade apresenta três grupos hidroxil ($C_2 > C_6 > C_3$) os valores do grau de substituição variam entre 0 – 3,0 (QUADRADO; FARJADO, 2020;).

A inserção dos grupos carboximetil na estrutura do amido garante novas propriedades como mucoadesividade, alta capacidade de respostas ao pH, solubilidade em água a temperatura ambiente, gelatinização em baixas temperaturas, diminuição da viscosidade e melhorias no inchaço dos grânulos, características importantes para preparação de excipientes (LEFNAOUI; MOULAI-MOSTEFA, 2015; QUADRADO; FARJADO, 2020).

A aplicação do carboximetilamido como transportador farmacêutico do Paracetamol foi investigado por Das, Jha e Jayaram Kumar (2015). O amido de *Curcuma angustifolia* foi modificado e obtido diferentes graus de substituição. Os ensaios de liberação *in vitro* dos comprimidos foram realizados em soluções de HCl (pH 1,2) e tampão fosfato (pH 6,8 e 7,4) no período de 8 h e verificou-se que a liberação do fármaco diminuía com o aumento do grau de substituição (0,046-0,256), devido ao aumento do grupo carboximetila, aumentando a hidrofobicidade do amido, prologando a liberação do fármaco e comprovando o potencial da matriz polimérica para formulações de liberação controlada.

A influência do grau de substituição do amido de milho modificado foi estudada por Assad e Mateescu (2010). As amostras de carboximetilamido com valores do grau de substituição entre 0,09-0,11 se mostraram eficientes para a liberação sustentada do acetaminofeno. Quando parcialmente protonado, o CMA apresenta uma baixa sensibilidade ao

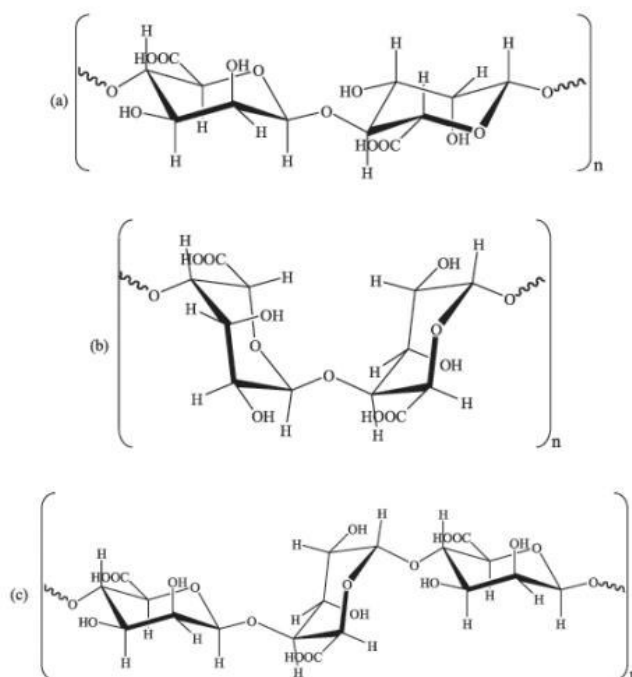
pH do meio, assim, o material sofre uma difusão, com uma hidratação suficiente apenas para formar uma camada de hidrogel que permite a dissolução lenta do fármaco.

O CMA apresenta vantagens para a entrega de fármacos por administração oral, pois em meio gástrico (pH = 1,2) o amido aniônico é protonado, impedindo a difusão da estrutura e em meio entérico (pH = 7,4) os grupos carboxil encontra-se ionizado, grupos carboxil estão no estado ionizado, permitindo a hidratação e intumescimento da estrutura para dissolução do agente ativo (POORESMAEIL; NAMAZI, 2021).

2.4. Alginato de sódio

O alginato é um polissacarídeo linear de natureza aniônica, extraído de algas marinhas marrons do Filo *Phaeophyceae* ou de bactérias dos gêneros *Azotobacter* e *Pseudomonas*. Sua estrutura é formada pelos ácidos α -L-gulurônico (G) e β -D-manurônico (M), com ligações glicosídicas (1 $\rightarrow$ 4), como apresentando na Figura 7. As cadeias são constituídas pelos blocos de homopolímeros, MM e GG, e blocos MG em sequências alternadas (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011; SHEN; HSIEH, 2014).

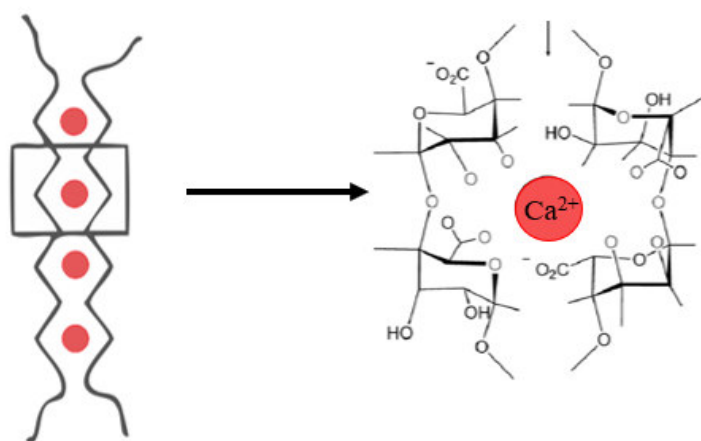
Figura 8. Estrutura em blocos dos ácidos (a) D-manurônico; (b) L-gulurônico e (c) sequência alternada dos ácidos M e G.



Fonte: PACHECO (2016)

Uma característica importante do alginato de sódio é a formação de hidrogéis por gelificação ionotrópica com íons divalentes. Os grupos -COO^- presentes nos blocos G reagem com o cátion polivalente, normalmente com íons Ca^{2+} , alinhando-se para formar uma estrutura conhecida como “*egg-box*”, modelo proposto por Grant, em 1973, na qual os blocos gulurônicos são aproximados paralelamente, acomodando o íon de cálcio em seu interior, semelhante a uma caixa de ovos (SINHA; UBAIDULLA; NAYAK, 2015; PACHECO, 2016; FERNANDES; MOURA; AOUADA, 2017).

Figura 9. Desenho esquemático do modelo eggs-box para formação de gel de alginato pela reticulação com íons Ca^{2+} .



Fonte: Adaptado LEICK et al, 2010

O alginato de sódio é biodegradável, biocompatível, termicamente estável e forma géis rapidamente solubilizando em água fria, e particularidades como propriedades mecânicas ajustáveis tornou-o atraente para o design de sistemas de liberação de fármacos (MÜLLER; SANTOS, BRIGIDO, 2011; AGÜERO *et al.*, 2017).

No alginato, o pH desempenha um papel importante, sobretudo para a formação do hidrogel, inchaço, liberação e degradação do dispositivo. A sensibilidade ao pH é resultado da presença dos grupos carboxílicos na sua estrutura: quando exposto a meios onde o pH é menor que seu pK_a ($\text{pH} < 3,4$), o grupo carboxila mantém-se não ionizado (-COOH) e a estrutura se torna insolúvel. Quando o $\text{pH} > 4,4$, o grupo é ionizado (-COO^-), gerando uma repulsão eletrostática entre as cargas negativas que expande a cadeia polimérica e causa um inchaço da matriz, que é maior em $\text{pH} 7,4$ (AGÜERO *et al.*, 2017).

No entanto, o alginato apresenta algumas restrições quanto a sua aplicabilidade na área farmacêutica. Freitas *et al.*, (2018) explicam que essas limitações se dão pela baixa resistência mecânica, rápida liberação por dispor de poros nanométricos (5-200 nm) e ausência de bioadesividade, no entanto, essas características podem ser aprimoradas quando misturado com outros polímeros.

2.5. Misturas poliméricas: amido e alginato de sódio

Misturas de alginato de sódio e amido têm sido empregados como sistemas matriciais, pois a combinação entre os biopolímeros supre as deficiências que cada um apresenta, individualmente. Em administrações orais, o amido é rompe-se rapidamente após a ingestão e o alginato libera as drogas ainda durante a preparação das esferas por causa da sua alta porosidade, reduzindo a eficiência do encapsulamento, assim misturas de alginato e amido são consideradas para aumentar o desempenho dos materiais com melhor eficiência de encapsulamento, absorção de água e perfil controlado de liberação (NAYAK, 2018; THOMAS; MATHEW; NATH, 2021).

As inúmeras propriedades dos polímeros os tornam propícios para diversas aplicações, entretanto, nem todos apresentam todas as propriedades necessárias, dependendo da aplicabilidade. Uma das opções para melhoria das características do material é a adição de um segundo polímero, constituindo um novo material com propriedades específicas e necessárias (EASTWOOD *et al.*, 2005).

As propriedades de fibras de alginato/amido foram estudadas por Wang *et al* (2010). Os pesquisadores observaram que o material apresentou sensibilidade ao pH e resistência iônica ao meio de liberação. Os resultados também indicaram eficácia na melhoria das propriedades mecânicas das fibras carregadas com ácido salicílico. Quanto a liberação em meio tamponado pH 7,4, a dissolução do fármaco modelo é maior com aumento da quantidade de amido nas fibras, isso porque as interações entre os íons Ca^{2+} e os grupos carboxil do alginato diminui mediante as fortes interações intermoleculares entre os polissacarídeos.

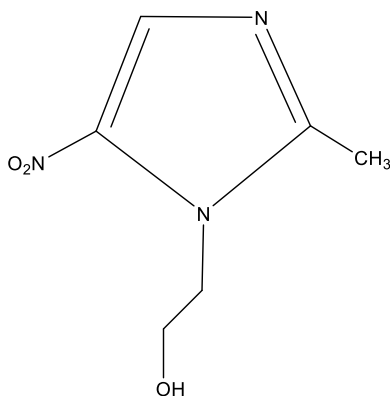
Nanopartículas de alginato/amido de milho carregadas com Teofilina e Albumina Sérica Bovina (BSA) mostraram que a liberação se manteve controlada com o aumento do amido nas partículas, com proporção que variaram entre 1:1 – 1:6, razão alginato/amido. O estudo verificou que o inchaço é o mecanismo de liberação desse material que depende do pH do meio de liberação (THOMAS; MATHEW; NATH, 2021).

Outros materiais à base das misturas de alginato/amido foram analisados (ESMAEILI; BEHZADI, 2017; FERNANDES *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2021; ZAFEIRI *et al.*, 2021), porém, mais estudos precisam ser realizados, principalmente tendo como objeto de pesquisa a interação entre alginato de sódio e o carboximetilamido.

2.6. Metronidazol

O metronidazol [1- (2-Hidroxietil) -2-metil-5-nitroimidazol] é um fármaco da classe de drogas 5-nitroimidazol que possui fórmula molecular ($C_6H_9N_3O_3$) e peso molar de 171,15g/mol. É uma droga antibacteriana e antiprotozoária utilizado no tratamento de infecções como amebíase, tricomoníase, giardíase, vaginose, dentre outras (GOOLSBY; JAKEMAN; GAYNES, 2018). Seu uso comercial se iniciou no ano de 1960 na França, porém, sua ação antibacteriana só foi constatada em ou 1962 quando foi aplicada no tratamento de tricomoníase e gengivite bacteriana (RODRIGUES; CASELI, 2018).

Figura 10. Estrutura molecular do fármaco metronidazol.



Fonte: Adaptado de STANCIL *et al.*, (2018)

O fármaco apresenta propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas atraentes, perfil de efeito colateral favorável e baixo custo, cuja aplicação pode ocorrer por via oral, intravenosa, vaginal e tópica. Na administração oral, o metronidazol é bem absorvido, alcançando o nível plasmático em torno de 1-2 horas após o uso (GHOTASLOU *et al.*, 2018). No entanto, efeitos colaterais de natureza gastrointestinal como náusea, anorexia, vômitos e cólicas abdominais são os mais comuns durante os tratamentos com MTZ e os menos comuns são os sintomas neurológicos incluindo vertigem e cefaleia (YAZDANI *et al.*, 2019).

Segundo Preisig *et al.*, (2021), o metronidazol oral usado no tratamento de *Clostridioides difficile* apresenta uma absorção superior a 80% da dose e somente 6 a 15% da dose administrada é eliminada por meio fecal.

Na literatura são encontrados diversos estudos voltados para a produção de sistemas de entregas do metronidazol à base de hidroxietilcelulose e carbopol (JONES *et al.*, 1997; SINGH *et al.*, 2014), montmorilonita (CALABRESE *et al.*, 2013), policaprolactona (PATHAK *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2021), riboflavina (PATRA *et al.*, 2019), hidroxipropil- β -ciclodextrina (CELEBIOGLU, UYAR, 2019), alginato e quitosana (CIRRI *et al.*, 2021).

O metronidazol foi escolhido como fármaco modelo para o desenvolvimento das matrizes de alginato de sódio/amido do mesocarpo do babaçu, nativo e modificado, para entrega por administração oral, estudando a capacidade do sistema em controlar a liberação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver sistemas a partir de uma mistura polimérica utilizando amido extraído do mesocarpo do babaçu (*Orbignya phareolata* Mart.) e alginato de sódio como sistema carregador do fármaco Metronidazol.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Extrair o amido do mesocarpo do babaçu (*Orbignya phareolata* Mart.) por tratamento aquoso;
- ✓ Modificar o amido por carboximetilação e analisar o grau de substituição e realizar os estudos de solubilidade, intumescimento e teor de amilose;
- ✓ Obter as esferas do alginato de sódio/amido nativo e alginato de sódio/carboximetilamido;
- ✓ Caracterizar os materiais obtidos pelas técnicas de Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR), Espectroscopia de Absorção Molecular, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise térmica (DSC);
- ✓ Analisar a desintegração dos polímeros por intermédio do controle das esferas a partir dos estudos de intumescimento e erosão;
- ✓ Avaliar sua capacidade de novo material como excipiente na liberação do fármaco metronidazol.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e Reagentes

O Mesocarpo do babaçu foi obtido no comércio local de São Luís/MA. O Alginato de sódio puríssimo foi fornecido pela empresa Isofar. O fármaco Metronidazol com 99% de pureza (Sigma Aldrich) foi gentilmente fornecido pela Prof. ^a Dr.^a Ana Alcantara, do laboratório Bionanos – UFMA. Os reagentes Etanol 99,6% (Quimex), Metanol (Isofar), Acetona (Quimex), Ácido cloroacético (Alphatec), Cloreto de cálcio (2.H₂O) (Isofar), Hidróxido de sódio (Isofar), Ácido acético glacial (Isofar) foram todos de grau analítico. Os reagentes Fosfato de potássio monobásico anidro (Isofar) e Fosfato de potássio dibásico anidro (Alphatec) foram utilizados para a preparação do tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,4, bem como o Ácido clorídrico 37% (Quimex) 1,0 mol.L⁻¹ usado para ajuste de pH.

4.2. Extração do amido do mesocarpo do babaçu

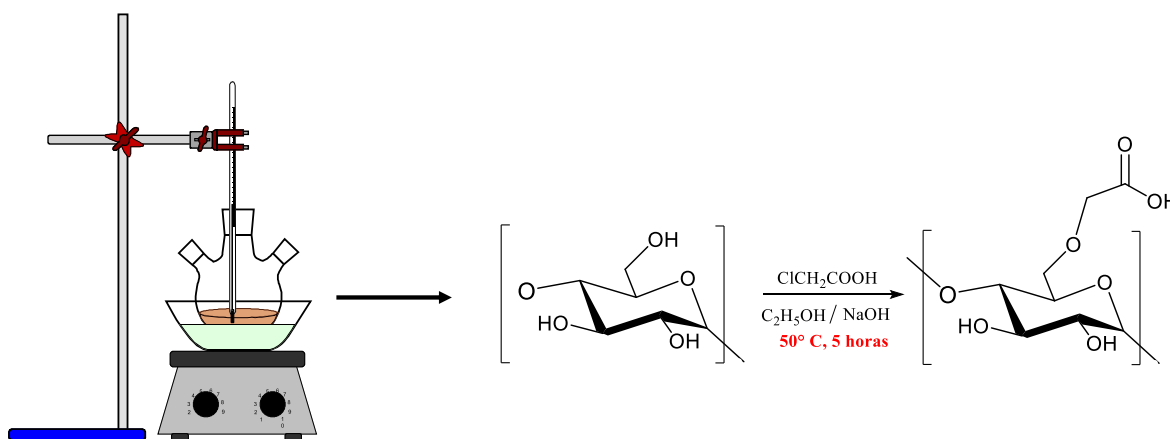
O processo de isolamento do amido do mesocarpo do babaçu (AMB) foi realizado com base na experimentação desenvolvida por Tápia-Blácido e Maniglia (2016), usando apenas o método de extração em água. A farinha do mesocarpo do babaçu foi umidificada com água destilada em uma proporção de 1:2, resultando em uma mistura que foi refrigerada e deixada em repouso por 16 horas. Após esse processo, o material foi misturado com o auxílio de um agitador aéreo e moído em um processador de alimentos por 3 min, na potência máxima. Em seguida, a pasta moída foi filtrada por meio de um conjunto de peneiras de 270, 200 e 80 mesh e o material retido foi reprocessado e filtrado por mais quatro vezes. O amido obtido foi separado por meio de filtração a vácuo e em seguida, o sólido colocado na estufa a 40° C para secagem durante a noite.

4.3 Modificação do amido por carboximetilação

O Carboximetilamido (CMA) foi sintetizado com base no método proposto por Li *et al* (2019), com algumas modificações. Inicialmente, 3,5 g de NaOH foram adicionados em um balão de três tubuladuras em banho maria, seguido pela adição de 60 mL de Etanol absoluto sob agitação contínua até a formar uma solução homogênea e branca. 5 g do AMB foi adicionado ao frasco e a reação foi mantida por 60 min a 40° C para tornar o amido intumescido

e alcalinizado (fig. 1). Em seguida, diferentes quantidades de ácido monocloroacético (4 e 5g) foram incorporados à pasta para a obtenção de três amostras de CMA com diferentes graus de substituição de carboximetila, mantendo a temperatura de 50° C por mais 4h. Ao término do tempo estimado, 50 mL de metanol foram adicionados a mistura, que posteriormente foi neutralizada com ácido acético, filtrada e lavada várias vezes com uma solução de metanol 95% para a remoção de cloretos e subprodutos indesejados, depois seco em estufa a 40 ° C por 24 horas. As amostras foram nomeadas como CMA1 e CMA2 de acordo com a quantidade do agente eterificante adicionado.

Figura 11. Esquema do meio reacional da modificação do amido por eterificação.



Fonte: AUTOR (2021)

4.4. Propriedades físico-químicas e funcionais do amido *in natura* e carboximetilamido

4.4.1. Determinação do Grau de Substituição

O grau de substituição foi determinado com base na metodologia proposta por Wang *et al* (2020). As amostras (0,5 g) foram dissolvidas em 15 mL de HCl 2 mol.L⁻¹ e em seguida as suspensões foram agitadas por 30 minutos. As misturas foram lavadas com etanol anidro e os sedimentos foram dissolvidos em 20 mL de NaOH 0,1 mol. L⁻¹, transferidos para Erlenmeyer e titulados com uma solução padrão de HCl 0,1 mol. L⁻¹, usando uma solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % como indicador. Os valores do GS foram calculados pelas seguintes equações:

$$A = \frac{(C_{NaOH} \times V_{NaOH} - C_{HCl} \times V_{HCl})}{M} \times 100\% \quad \text{Equação 1}$$

$$GS = \frac{(0,162 \times A)}{(50 - (0,058 \times A))} \quad \text{Equação 2}$$

Onde: A ($mmol$) é a quantidade de NaOH consumido para neutralizar 0,5 de CMS, representada por M . Na equação 2, 0,162 ($g/mmol$) é a massa molar da unidade de glicose e 0,058 ($g/mmol$) é a massa molar do carboximetil.

4.4.2. Estudo de Solubilidade e Intumescimento

Para o estudo do grau de solubilidade e intumescimento, 100 mg do AMB, CMA1, CMA2 foram pesados em tubos falcon e 10 mL de água destilada foi adicionada. Os tubos foram aquecidos em banho maria com temperatura controlada a 30 ° C, 60° C, 90° C durante 30 min. As suspensões foram resfriadas à temperatura ambiente e centrifugadas a 3200 rpm por 15 min. Os sobrenadantes foram colocados em béqueres para secagem a 100° C e o peso seco foi anotado, bem como as amostras inchadas. A solubilidade e inchaço das amostras foram determinados usando as equações abaixo, onde A_s é o peso do amido solubilizado e A_i é a massa inicial.

$$\text{Solubilidade (mg.mg}^{-1}\text{)} = \frac{A_s}{A_i} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

$$\text{Intumescimento (\%)} = \frac{\text{Amido úmido}}{A_i} \times 100 - \text{solubilidade} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

4.4.3. Determinação do teor de amilose

O teor de amilose do amido nativo e carboximetilado foi determinado pelo método colorimétrico com base na metodologia descrita por Das, Jha e Kumar (2015), com algumas alterações. Foram pesadas 100 mg de AMB, CMA1 e CMA2, em seguida foram adicionados 1 mL de álcool etílico 95% e 9 mL de solução de hidróxido de sódio 1 mol.L⁻¹ e a mistura foi colocada sob agitação por 60 minutos. As suspensões foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL devidamente identificados e o volume foi completado com água destilada. Foram retiradas alíquotas de 5 mL da solução preparada e transferiu-se para um balão de 100 mL identificado. Então, 1 mL de ácido acético 1 mol.L⁻¹ e 2 mL de Lugol (solução iodo-

iodeto de potássio). A reação da solução de iodo-iodeto com o AMB, CMA1 e CMA2 formaram um complexo de coloração azul (Figura 11). Após 30 min em um ambiente escuro, foi feita a leitura de absorbância a 620 nm contra o branco. O teor de amilose foi obtido conforme a equação 5:

$$\text{Teor de amilose (\%)} = 3,06 \times \text{absorbância} \times 20 \quad \text{Equação 5}$$

Onde, 3,06 é o fator de correção e 20 corresponde a afinidade iodo-amido de acordo com o rendimento teórico da amilose.

4.5 Caracterização do fármaco Metronidazol (MTZ)

4.5.1. Determinação da banda de absorção do MTZ na região do ultra-violeta (UV)

Foram realizadas análises do Metronidazol em um espectrofotômetro UV-VIS (KASUAKI, modelo IL-592-BI) em pH neutro e em pH ácido, para determinação da banda de absorção máxima do fármaco. Preparou-se soluções diluídas de MTZ em HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2 e em tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,4. As soluções foram analisadas na região do UV e os bandas de absorção máxima foram obtidos.

4.5.2. Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia na região do UV

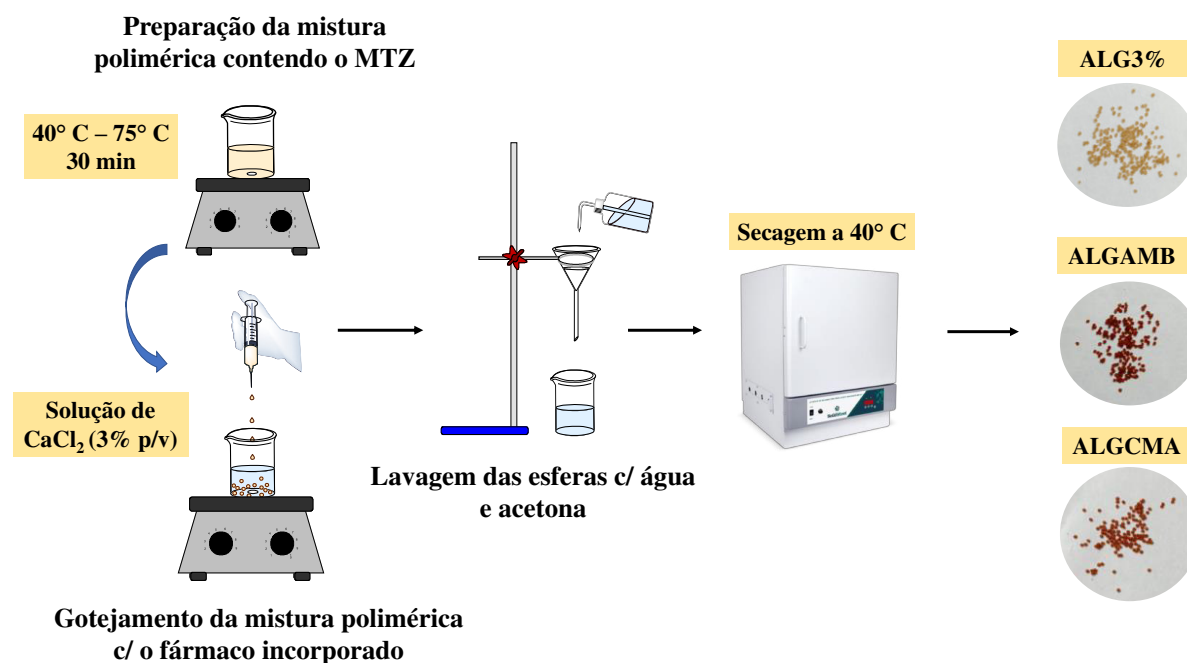
As curvas analíticas de MTZ foram obtidas em água destilada, solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2 e solução de tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,4. A partir de uma solução estoque, foram preparadas diluições na faixa de concentração entre 0,625 µg/mL e 25 µg/mL para ambos meios de diluição. As leituras foram realizadas em triplicata e os valores médios das leituras foram usadas para construção dos gráficos e para o cálculo das equações das retas.

4.6. Preparação das matrizes poliméricas

4.6.1. Preparação das esferas de Alginato/Amido e Alginato/Carboximetilamido contendo o fármaco metronidazol

Dispersões viscosas de amido/alginato e carboximetilamido/alginato foram preparadas em água destilada por homogeneização. Soluções concentradas de alginato foi preparada em água destilada (3% p/v) com o auxílio de um agitador magnético a uma temperatura de 40° C. As esferas foram obtidas pela técnica de extrusão. A solução de alginato foi gotejada através de uma seringa com uma agulha n° 21 em uma solução de CaCl₂ (3% m/v). Foram realizados testes em outras concentrações, mas os melhores resultados foram nessa concentração, onde as matrizes ficaram em repouso por 30 min para aumentarem sua rigidez, depois foram filtradas, lavadas com água, endurecidas em acetona e secas em uma estufa a vácuo a 40 ° C por 24 horas. Dispersões viscosas de amido/alginato e carboximetilamido/alginato também foram preparadas, adicionando quantidades de amido nativo e modificado às soluções de alginato de sódio (3% m/v) em uma proporção 1:1, sob agitação a uma temperatura que variaram entre 75 °C (AMB) e 40 °C. Os *beads* foram obtidos de acordo com o procedimento descrito anteriormente. A Figura 12 ilustra as etapas empregadas na preparação das esferas.

Figura 12. Representação esquemática das etapas utilizadas na preparação das esferas de ALG, ALG.AMB e ALG.CMA.



FONTE: Autor (2021)

Para a incorporação do fármaco, foram preparadas soluções aquosas do MTZ 0,5 mg/mL que foram usadas para a dispersão dos polímeros, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. A composição das amostras está descrita na tabela 1.

Tabela 1. Composição das matrizes poliméricas de ALG3%, ALG.AMB e ALG.CMA, de acordo com o Grau de Substituição (GS), com o fármaco incorporado.

Amostras	MTZ (mg/mL)	AMB (g)	CMA (g)	ALG (% p/v)	CaCl₂ (% p/v)
ALG3%	0,5	-	-	3	3
ALG.AMB	0,5	3,0	-	3	3
ALG.CMA1 (GS = 0,15)	0,5	-	3,0	3	3
ALG.CMA2 (GS = 0,3)	0,5	-	3,0	3	3

4.6.2. Estudo de intumescimento das esferas

Para o monitoramento do processo de sorção de fluidos, 100 mg dos beads foram imersos em 10 mL de meio gástrico simulado (HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2) e meio entérico simulado (tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹), colocados sob uma agitação de 120 rpm e retirados em intervalos pré-estabelecidos por 4 horas. A matriz inchada foi suavemente seca em papel filtro para remoção do excesso dos fluídos e pesadas, posteriormente. O inchaço foi calculado pela equação 5:

$$Inchaço = \frac{Mf \text{ (mg)}}{Mi \text{ (mg)}} \quad \text{Equação 6}$$

4.6.3. Análise de erosão

Os estudos de captação de água indicaram que, após um intumescimento ideal, as esferas mostraram uma queda constante em seus pesos de inchaço, que pode ser atribuído à erosão dos

grânulos devido à interação água-polímero. Assim, a fim de monitorar a perda de massa, as esferas secas antes do intumescimento foram atribuídos como pesos iniciais (m_i). As esferas inchadas foram liofilizadas por 24 horas e a massa resultante foi pesada e aplicada como peso final (m_f). A erosão foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$Erosão (\%) = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

4.7. Caracterização dos materiais

4.7.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para análise das amostras de alginato, amido *in natura*/modificado, fármaco metronidazol e das esferas carregadas com o MTZ na região do IV, foram obtidos espectros vibracionais em um espectrômetro Shimizu, modelo IRPrestige-21, adicionando-se cerca de 1,0 mg de cada amostra em 100 mg de KBr. A mistura foi compactada sob uma pressão de 10 a 15 kPsi e os discos gerados foram submetidos a uma análise na faixa espectral no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} . Os espectros foram realizados numa resolução de 4 cm^{-1} a partir de 40 varreduras (número de *scans*).

4.7.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

A técnica foi empregada para a análise da morfo-estrutural dos grânulos do alginato de sódio e do amido do mesocarpo do babaçu, bem como as suas alterações após a modificação aniônica. A estrutura da superfície das esferas com o fármaco metronidazol incorporado também foram analisadas pelo MEV e EDS para identificação dos compostos químicos presentes na superfície das amostras através de um mapeamento na área selecionada. O aparelho utilizado para a captação das imagens foi um microscópio eletrônico de varredura HITACHI modelo TM3030, pertencente ao Laboratório de Biomateriais em Odontologia do Maranhão do Departamento de Odontologia - UFMA empregando um aumento 2000, 1000 e 500 vezes para a obtenção das fotomicrografias.

4.7.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial das amostras do amido *in natura* e carboximetilamido (DS = 0,3), bem como as esferas de ALG3%, ALG.AMB e ALG.CMA com o fármaco incorporado foram realizados em um equipamento Shimadzu DSC-60, sob atmosfera de nitrogênio (fluxo de 100 mL/min), a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. As análises foram realizadas no intervalo de temperatura entre 30° a 550 °C, sendo utilizados aproximadamente 10 mg das amostras.

4.7.4. Espectroscopia de Absorção Molecular

Para detectar a presença do fármaco nas esferas, 100 mg de cada amostra foi dissolvida em 100 mL de tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,4 por 4 horas sob agitação contínua. A suspensão foi centrifugada, filtrada e a análise foi feita em um espectrofotômetro UV-VIS (KASUAKI, modelo IL-592-BI). Esferas sem o fármaco também passaram pelo mesmo procedimento de dissolução para serem usadas como branco.

4.8. Eficiência de Encapsulamento (EE)

A quantidade do agente ativo (MTZ) nas esferas foi determinada a partir da espectroscopia no UV/Vis. Com a curva de calibração construída, como descrito na secção 4.6.2, dissolveu-se 100 mg das esferas com o agente ativo em 100 mL de tampão fosfato pH 7,4 e a dispersão ficou sob agitação durante 4 horas para a quebra total do material polimérico. Após esse período, a dispersão resultante foi filtrada e realizada a medida de absorção em 320 nm para o metronidazol. O procedimento foi feito em triplicata e uma dispersão de esferas sem fármaco foi usado como branco. A EE foi obtida mediante a correlação da quantidade de fármaco adicionada a mistura polimérica e ao que foi encontrado nas esferas em solução tampão. O valor da eficiência foi estimado a partir da equação 6:

$$EE (\%) = \frac{\text{fármaco encapsulado}}{\text{fármaco adicionado}} \times 100 \quad \text{Equação 8}$$

4.9. Estudo de liberação *in vitro*

4.9.1. Perfil de liberação em meio gástrico simulado

Para o ensaio de liberação, 100 mg das amostras carregadas com o fármaco foram suspensas em 100 mL de HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2 a uma temperatura de 37 °C e mantidos sob agitação de 120 rpm por 2 horas, simulando o tempo de residência na região estomacal. Em intervalos pré-determinados, foram retiradas alíquotas do meio de dissolução e a quantidade de MTZ liberado foi quantificado a 276 nm por espectroscopia no UV-Vis.

4.9.2. Perfil de liberação em meio entérico simulado

Para este ensaio de liberação, 300 mg das amostras carregadas com o fármaco foram suspensas em 100 mL de tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,4 a uma temperatura de 37 °C e mantidos sob agitação 120 rpm por 4 horas, simulando o tempo de residência na região intestinal. Em intervalos pré-determinados, foram retiradas alíquotas do meio de dissolução e a quantidade de MTZ liberado foi quantificado a 276 nm por espectroscopia no UV-Vis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Propriedades físico-químicas e funcionais do amido *in natura* e carboximetilamido

5.2.1. Determinação do grau de substituição

O grau de substituição (GS) dos amidos modificados determinado pelo método de retrotitulação apresentou valores de 0,15 e 0,3, indicando o número de grupos carboximetila por unidades de anidroglicose. Esses resultados evidenciaram que o GS aumentou de acordo com o aumento da razão molar entre o as diferentes quantidades de ácido monocloroacético (AMCA) e o amido.

Tabela 2. Efeito da razão molar AMCA/AMB no grau de substituição do amido carboximetilado.

Amostras	Razão AMCA/AMB	Grau de Substituição
CMA1	0,8	0,15 ± 0,007
CMA2	1,0	0,30 ± 0,007

No meio reacional, o ambiente alcalinizado pelo hidróxido de sódio aumenta o inchaço do amido, facilitando a difusão e a introdução do ácido monocloacético à estrutura granular por substituição nucleofílica (LIU *et al.*, 2012). A modificação ocorre a partir da desprotonação das 3 hidroxilas livres (posição C₂, C₃ e C₆) que reagem com o AMCA. O solvente alcoólico etanol proporcionou a hidratação dos grânulos, facilitando a acessibilidade às hidroxilas das unidades de D-glicose (RIUL, 2013).

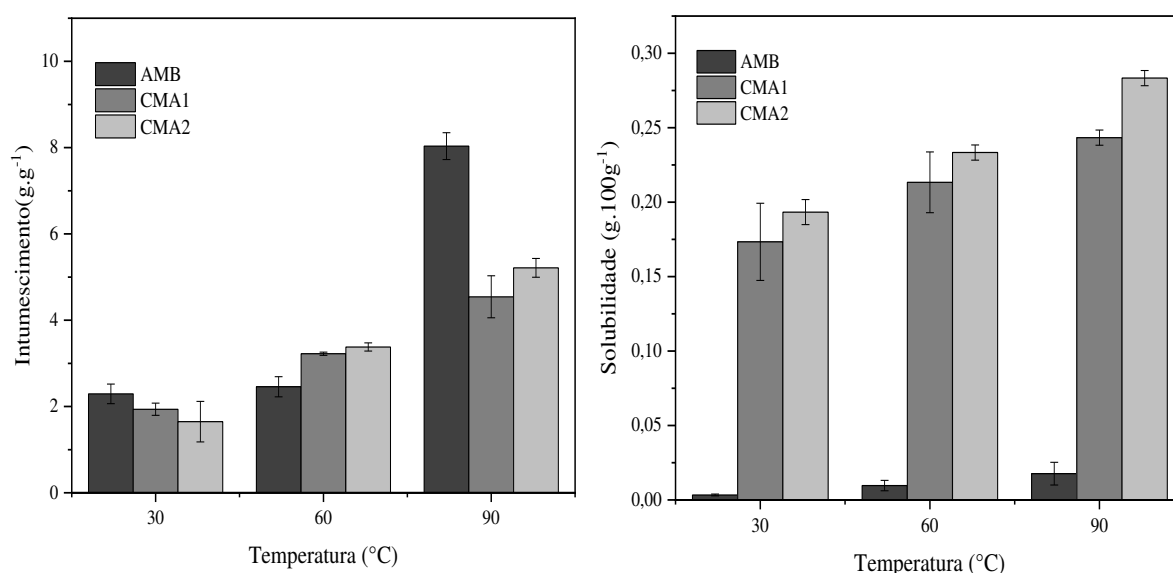
O GS dos grupos de carboximetila é um fator estrutural determinante nas propriedades do CMA. Comparando os valores obtidos pelas amostras de CMA, nota-se que o CMA2 apresentou o maior grau de substituição (DS=0,3), indicando que há mais grupos carboxílicos em sua estrutura e conseqüentemente, uma maior densidade de carga aniônica. Wang e Yang (2017) obtiveram carboximetilamidos, cujo GS variaram entre 0,1 a 0,95 de acordo com o aumento da razão molar entre o amido e o ácido monocloroacético. Resultados semelhantes também foram reportados por Liu *et al.*, (2012) que obtiveram um GS máximo de 0,32, pois

com o aumento na concentração de AMCA, o contato entre moléculas de amido e agente eterificante aumentou.

5.2.2. Estudo de solubilidade e intumescimento

O resultado do estudo de solubilidade e intumescimento do amido *in natura* e os amidos modificados são apresentados na figura 12.

Figura 14. Gráficos referentes ao grau de a) intumescimento e b) solubilidade do AMB e CMA1 e CMA2.



Através desse estudo foi possível observar que para ambas as amostras, os maiores valores encontrados para o grau de intumescimento foram em 90 °C, acima da temperatura de gelatinização do amido que está em torno de 75° C. Em 60 °C, as amostras de CMA1 e CMA2 apresentaram maior intumescimento quando comparado ao AMB, isso pode ser devido ao aumento da hidroflicidade do amido modificado com a introdução do amido do grupo carboximetil, facilitando a penetração e retenção de água na estrutura do carboximetilamido. No entanto, em 90 °C o AMB apresenta um grande aumento, podendo ser o grau de intumescimento máximo, enquanto o índice de intumescência do ocorre em um processo mais lento. Dados similares foram relatadas por Kittipongpatana e Kittipongpatana (2011) que estudaram as propriedades físico-químicas do amido extraído da jaca após a carboximetilação.

Como o intumescimento, a solubilidade das amostras aumentou com a temperatura. O AMB apresentou baixa solubilidade, que foi melhorada pela pré-gelatinização a partir de 60 °C. A solubilidade do CMA foi maior, sendo melhorada com o aumento do grau de substituição, por isso o CMA2 (GS = 0,3) mostrou-se mais solúvel que o CMA1 (GS = 0,15). Essa melhoria é devido a substituição dos grupos hidroxilas pelos grupos carboximetila, que causa uma diminuição na interação molecular devido a repulsão entre as cadeias do amido, permitindo a penetração da água (KITIPONGPATANA; KITIPONGPATANA, 2011; DAS; JHA; KUMAR, 2015).

5.2.3. Teor de amilose

Analisando a tabela 3, observa-se que o aumento do grau de substituição levou a uma diminuição do teor de amilose em relação ao amido *in natura*. De acordo com Kittipongpatana e Kittipongpatana (2013), a redução pode ser atribuída a modificação estrutural da amilose que no amido nativo assume uma conformação helicoidal, com ligações de hidrogênio formadas entre os átomos de oxigênio ligados ao C₂ e C₆, permitindo o aprisionamento do iodo no interior da hélice formada, resultando em um complexo de coloração azul. No entanto, com a carboximetilação, as ligações entre o hidrogênio com alguns dos átomos de oxigênio foram quebradas, distorcendo a estrutura do amido, não sendo possível a reação de complexação.

Tabela 3. Teor de amilose do AMB, CMA1 e CMA2.

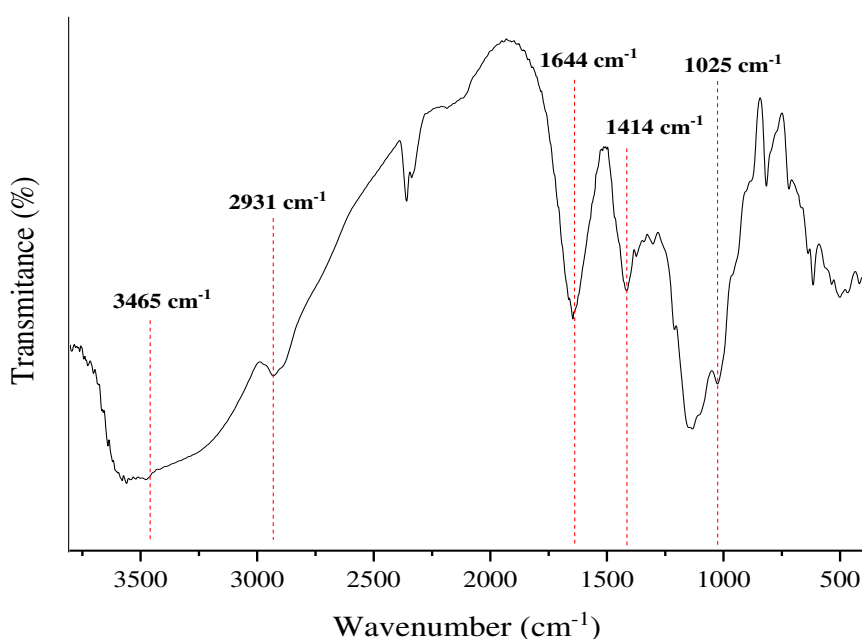
Amostras	Teor de amilose (%)
AMB	28,0 ± 0,89
CMA1 (GS = 0,15)	4,70 ± 0,21
CMA2 (GS = 0,3)	3,32 ± 0,04

5.2. Caracterização do alginato de sódio, amido nativo e carboximetilamido

5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Analisando a figura 13, referente ao espectro do Alginato de sódio, observa-se uma banda de absorção larga característica na faixa de 3400 cm^{-1} referente ao estiramento dos grupos -OH, associado as cadeias do polímero. Em 2931 cm^{-1} nota-se o aparecimento de uma banda atribuída as vibrações de alongamento de -CH alifático. A intensidade das bandas em 1644 e 1414 cm^{-1} competem as vibrações axiais assimétricas e simétricas de grupos COO^- , comprovando a presença de ácidos carboxílicos na composição química do alginato. O banda observado em 1025 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação C-O-C. As bandas que aparecem entre 800 cm^{-1} e 700 cm^{-1} são atribuídos aos ácidos manurônicos e gulurônicos. Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos de HOSSEINE *et al.*, (2014) e LAROSA *et al.*, (2018).

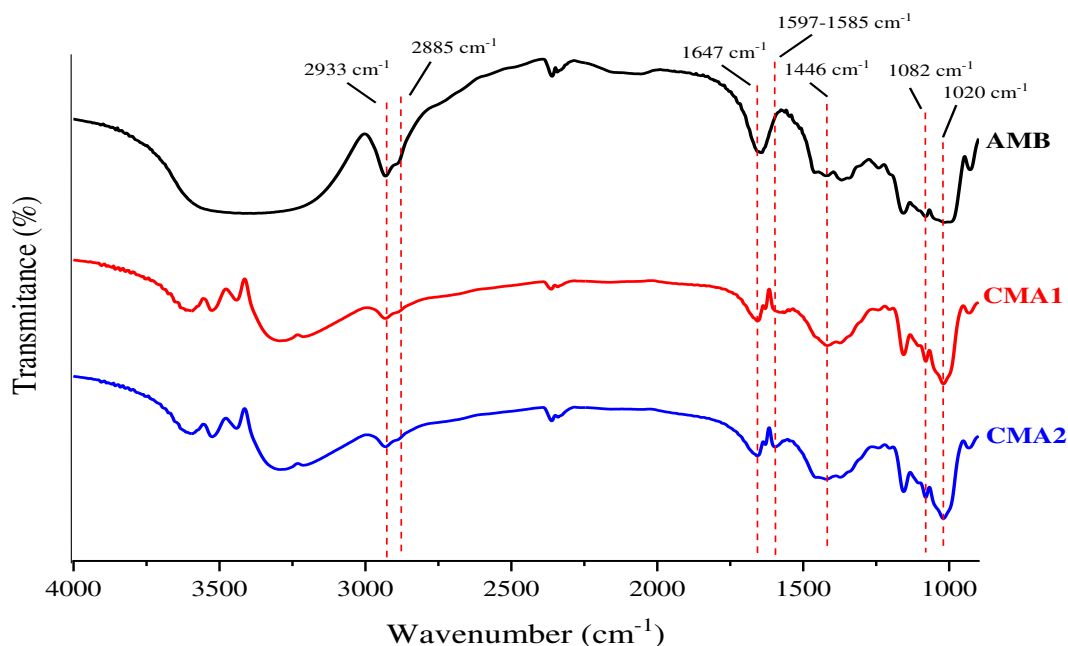
Figura 15. Espectro do alginato de sódio na região do infravermelho.



Na figura 14 têm-se a representação dos espectros infravermelhos do AMB, CMA1, CMA2. As informações do espectro “a”, referente ao amido *in natura*, apresenta uma banda larga na faixa de 3400 cm^{-1} atribuído ao estiramento de O-H devido aos grupos hidroxilas presentes na estrutura química do amido. Em 2933 e 2885 cm^{-1} tem-se uma banda relacionada ao alongamento simétrico e assimétrico do CH e CH_2 . A banda em 1647 cm^{-1} está associado a deformação angular das hidroxilas das moléculas de água adsorvidas na região amorfa do grânulo. O aparecimento de banda em 1082 cm^{-1} corresponde as vibrações de estiramento do

CH₂-O-CH₂ (SOUZA *et al.*, 2018), que segundo Tatongjai e Lumdubwong (2010), é característico da ligação glicosídica α -1,4 da amilose.

Figura 16. Espectros de infravermelho de: a) amido in natura extraído do mesocarpo do babaçu e b) e c) amidos carboximetilados com diferentes quantidades de ácido monocloroacético.



Os espectros “b” e “c” são referentes ao CMA1 e CMA2. Na região de 3000-3800 cm⁻¹ nota-se uma diminuição na intensidade da banda, bem como um deslocamento quando comparado com o espectro de AMB. Essa mudança ocorreu devido a introdução do -CH₂COONa, substituindo parcialmente os grupos -OH e pelo aumento do grau de substituição. Uma mudança semelhante pode ser observada em 2933 cm⁻¹ que pode estar relacionado às variações nas quantidades de amilose e amilopectina (KACZMARSKA *et al.*, 2018).

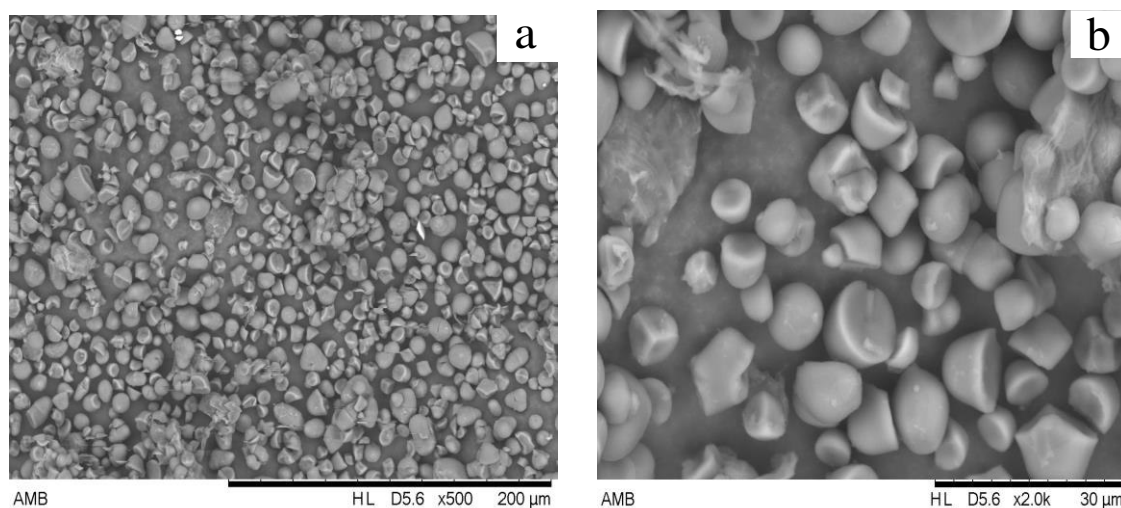
Foram observados o aparecimento de bandas entre 1600-1400 cm⁻¹, comprovando a presença dos grupos carboxilato (-COO⁻) (POORESMAEIL; NAMAZI, 2021). As bandas em 1583, 1595 cm⁻¹ e 1446 cm⁻¹ são atribuídos a vibração assimétrica e simétrica da carbonila C=O do grupo carboxila, confirmando a carboximetilação dos grupos hidroxilas presentes no amido do mesocarpo do babaçu. Resultados semelhantes foram observados na modificação do amido do inhame (YANLI; WENYUAM; XIA, 2009), amido de milho (ASSAAD *et al.*, 2011) e amido de batata (ZDANOWICZ; SPYCHAJ; LENDZION-BIELUN, 2014).

Em ambos os espectros se observa uma banda em 1020 cm^{-1} , correspondendo as estruturas amorfas dos amidos, porém, nos espectros correspondentes ao amido modificado, nota-se um aumento na absorção dessa banda, que pode estar relacionada com a diminuição da estrutura cristalina do amido após a carboximetilação (LIU *et al.*, 2019).

5.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

A morfologia dos grânulos do amido extraído do mesocarpo do babaçu pode ser observada na figura 15. Os grânulos do AMB apresentaram uma geometria oval e poliédrica, no entanto, também foram observados geometria semiesférica, decorrente da quebra de alguns grânulos. Morfologias semelhantes foram apresentadas para o amido de milho (WANG, 2021) e amido do anato (SILVEIRA; TAPIA-BLÁCIDO, 2018).

Figura 17. Micrografias obtidas por MEV do amido extraído do mesocarpo do babaçu com a) ampliação de 500x e b) ampliação de 2000x.



. Resultados semelhantes foram relatados por Rodrigues *et al.*, (2020) que atribuiu as disformidades ao tratamento utilizado para o isolamento do polissacarídeo, que ao absorver água, incha e tem a sua estabilidade térmica alterada através da absorção de água durante o tratamento aquoso, dessa forma, procedimentos como trituração, filtragem, secagem e moagem causam várias mudanças a estrutura granular do amido. É possível notar alguns grânulos aglomerados (Figura 15b) que segundo Maniglia e Tapia-Blácido (2016), são resquícios das fibras, proteínas e lipídios do mesocarpo do babaçu que não foram totalmente eliminados.

Os grânulos apresentaram superfícies lisas, não sendo possível verificar a presença de poros. De acordo com Zabot *et al.*, que a geometria poligonal e superfície lisa permite uma maior absorção de água e intumescimento do amido.

Quanto as micrografias dos amidos modificados expostos nas figuras 16 e 17 mostram que os grânulos carboximetilado apresentam distorções, com dobraduras e as laterais voltadas para o seu interior. Essas alterações e mudanças estruturais foram ocasionadas pelo meio fortemente alcalino ao qual o amido é submetido durante a carboximetilação.

Figura 18. Micrografias obtidas por MEV do amido carboximetilado (CMA1) com a) ampliação de 1000x e b) ampliação de 2000x.

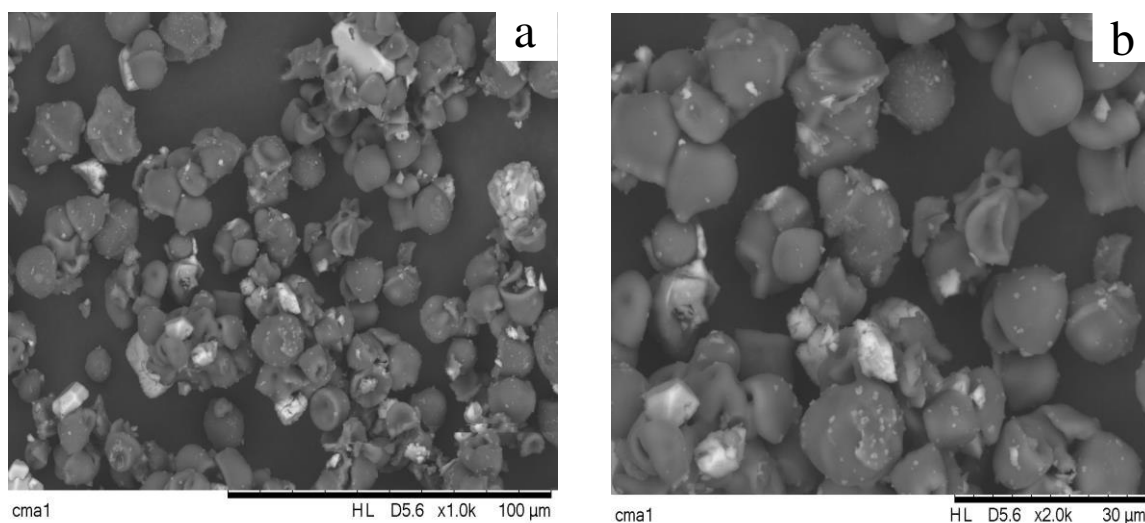
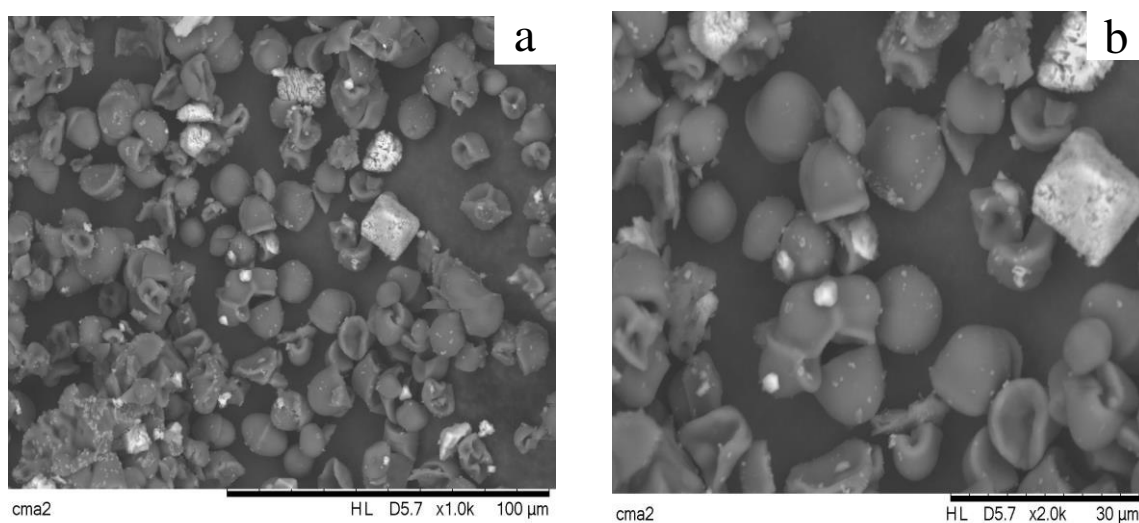


Figura 19. Micrografias obtidas por MEV do amido carboximetilado (CMA2) com a) ampliação de 1000x e b) ampliação de 2000x.



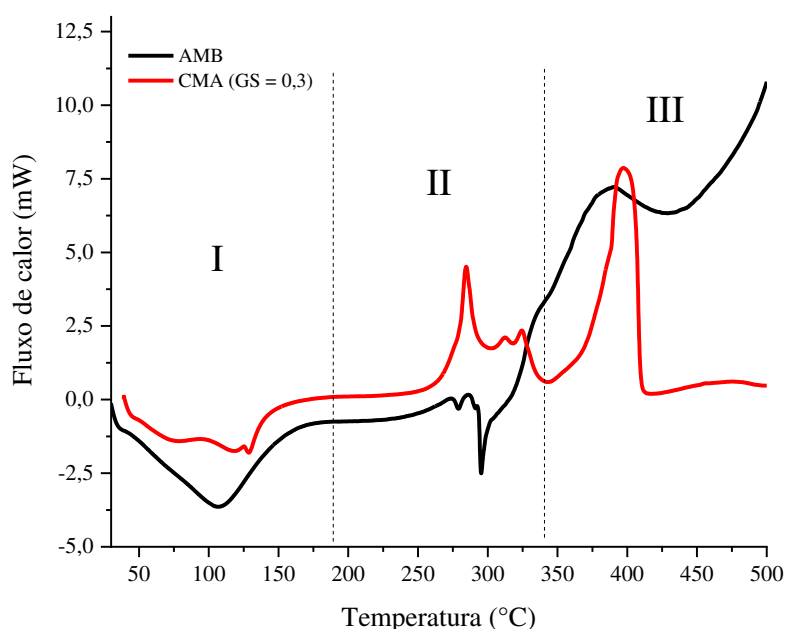
A desintegração da região cristalina e quebra das ligações químicas facilitou a inserção do agente eterificante as moléculas de amido, resultando em tais mudanças. Dados semelhantes foram reportados por Yalin, Wenyuan e Xia (2009) em amido de inhame chinês; por Wang *et al.*, (2010) em amido da raiz de kudzu; e por Liu *et al.*, (2012) em amido de batata.

Observa-se também que os grânulos de CMA2 foram os mais afetados, apresentando deformações mais intensas em relação ao CMA1. Essa diferença pode estar relacionada com a quantidade de ácido cloroacético adicionado ao meio reacional, concluindo assim que essa mudança granular do amido acontece após a eterificação.

5.2.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O levantamento das curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) do amido extraído do mesocarpo do babaçu por tratamento aquoso e do amido modificado por eterificação apresenta vários eventos térmicos, com picos endotérmicos e exotérmicos, como apresentado na figura 18.

Figura 20. Curvas DSC do AMB e CMA (GS: 0,3)



Na curva do AMB são observados três eventos, iniciando com um pico endotérmico entre 37 °C e 170 °C, referente a perda de água fisicamente adsorvida e gelatinização do amido. A gelatinização do amido do mesocarpo ocorreu em 107° C, pois como esse polissacarídeo apresenta insolubilidade em temperaturas mais baixas, no entanto, com o aumento da

temperatura e dispondo de um excesso de água, os grânulos começam a inchar, causando uma fragmentação da estrutura cristalina (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Outro evento endotérmico é exibido em 278 ° C e 295 ° C referente a temperatura de fusão do amido, que de acordo com os resultados obtidos por Sousa (2016) os picos estão relacionados a despolimerização das cadeias de amilose e amilopectina e perda de compostos voláteis que ocorreram pela cisão das cadeias poliméricas, levando a degradação da região cristalina do amido. Seguido desses, um pico exotérmico é aparece no terceiro estágio, sendo atribuído a degradação térmica dos resíduos cristalinos resultantes dos grânulos do AMB.

Quanto a curva DSC do CMA, é possível observar que a temperatura de transição vítrea e de fusão foram alteradas após a modificação. No primeiro estágio é exibido um pico endotérmico menos definido, entre 48 °C e 165 °C, inferior ao do amido *in natura*. Com a substituição parcial dos grupos hidroxilas por grupos carboximetila, as forças intermoleculares entre as cadeias do amido são diminuídas, aumentando a mobilidade molecular do carboximetilamido e consequentemente, a solubilidade e intumescimento em temperaturas mais baixas, por isso houve menos energia envolvida para a gelatinização (LI *et al.*, 2010; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). No segundo estágio, são apresentados picos exotérmicos em 284 °C, 312 °C e 325 °C, referentes a diminuição da cristalinidade, alterando a temperatura de fusão pelo processo de carboximetilação.

5.3. Caracterização do fármaco Metronidazol

5.3.1. Determinação da banda de absorção do MTZ na região do ultra-violeta (UV)

A partir da espectrofotometria na região do UV foram obtidos os espectros de absorção do MTZ solubilizado em HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2 e tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,6. A varredura do fármaco foi realizada de 600 a 200 nm, apresentando comprimentos de onda de máxima absorção em 320 nm e 276 nm (figura 19 e 20) , que são bandas característicos do fármaco nos solventes descritos anteriormente.

Figura 21. Espectro de absorção UV-Vis do metronidazol em HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2.

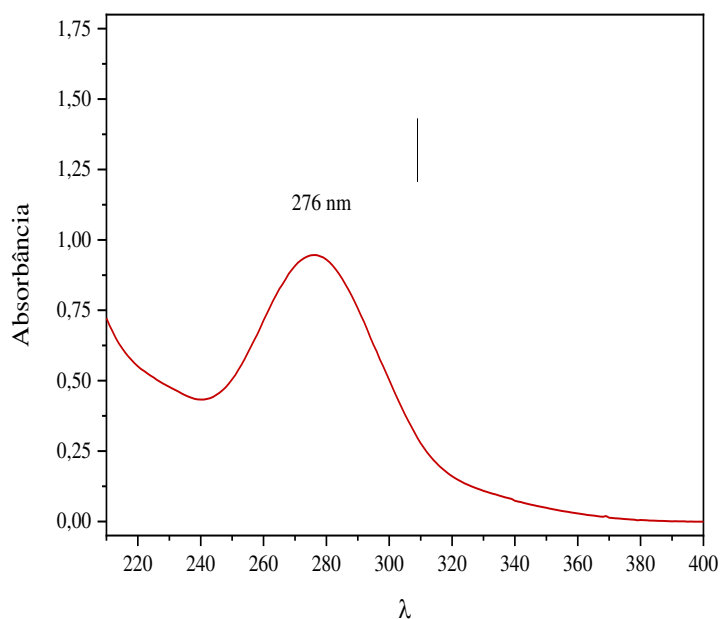
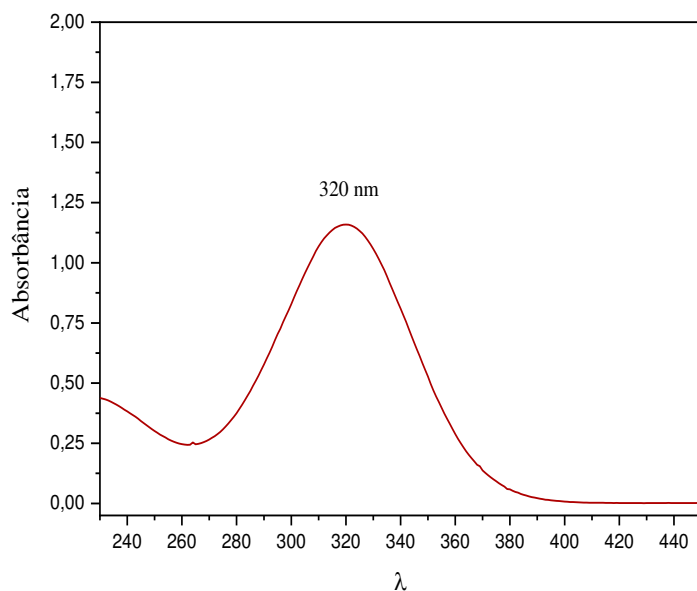


Figura 22. Espectro de absorção UV-Vis do metronidazol em tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,4.

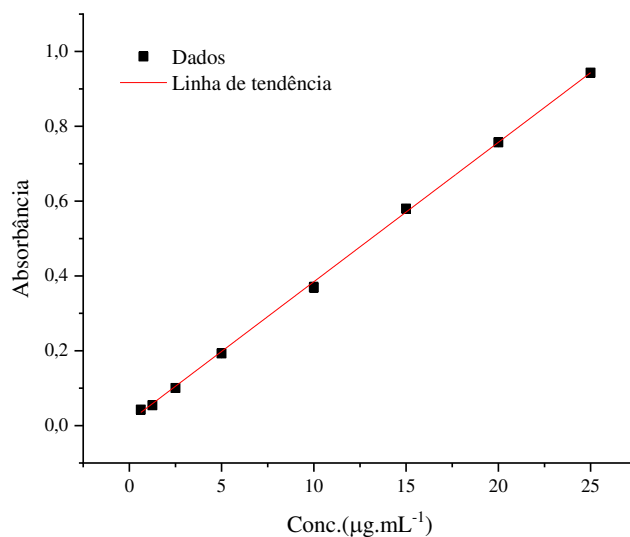


5.3.2. Curva analítica para quantificação do metronidazol por espectroscopia na região do UV

Para a construção das curvas analíticas, as leituras foram realizadas em triplicatas nos diferentes meios de dissolução, HCl e tampão fosfato. Nas leituras realizadas em HCl 0,1 mol.L⁻¹

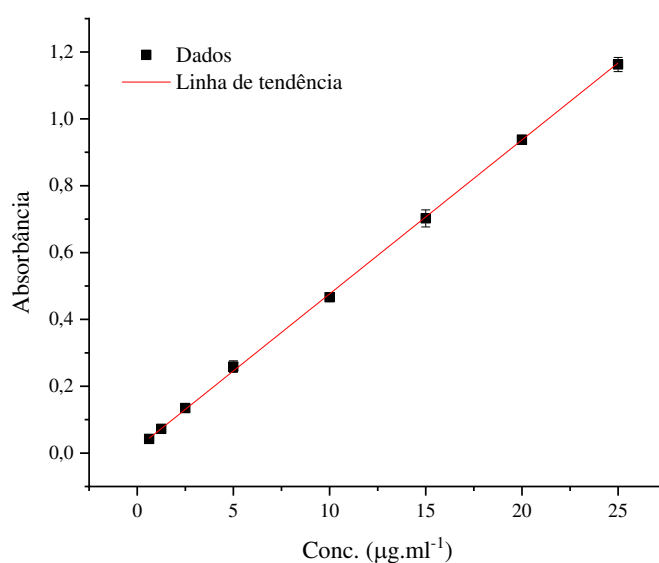
¹, o banda de absorbância máxima foi em 276 nm (fig. 21), cujo coeficiente de correlação para a curva analítica foi $R^2 = 0,9998$, obtendo-se a seguinte equação da reta: $y = 0,0371x + 0,012$.

Figura 23. Resposta analítica do fármaco metronidazol em HCl 0,1 mol.L⁻¹ pH 1,2, n=3.



Em tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹, o banda de absorbância máxima foi em 320 nm (fig. 22), com coeficiente de correlação determinado $R^2 = 0,9997$, obtendo-se o seguinte valor para a equação da reta: $y = 0,0461x + 0,0154$.

Figura 24. Resposta analítica do fármaco metronidazol em tampão fosfato 0,05 mol.L⁻¹ pH 7,6, n=3.

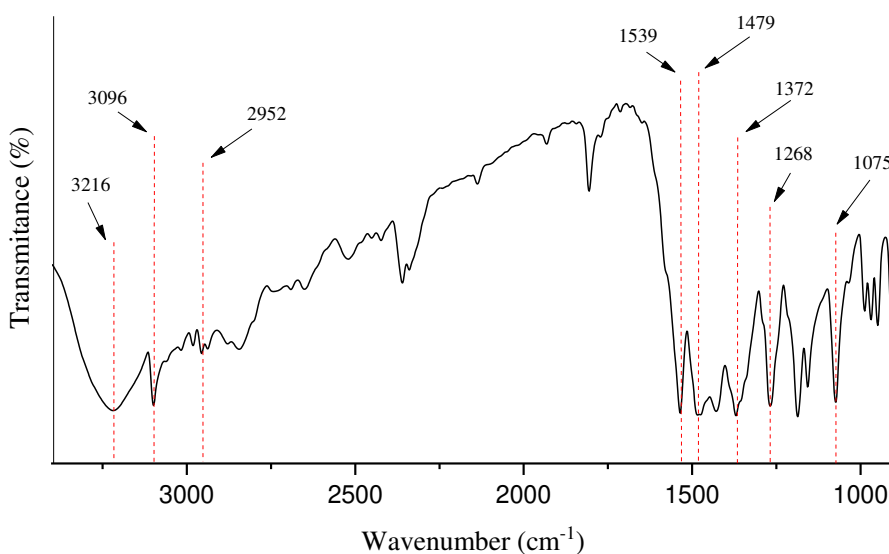


Em todas as curvas pôde ser comprovado uma correlação linear do analito entre os valores das diferentes concentrações e absorbância das soluções diluídas, corroborando com os resultados obtidos por Mendes, Monteiro e Pontual (2020).

5.3.3. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

No espectro do metronidazol (figura 23) o aparecimento de duas bandas de absorção em 3216 cm^{-1} e 3096 cm^{-1} correspondem as vibrações de estiramento associado ao grupo -OH e de C=C-H do anel imidazol. O banda vibracional localizado em 2952 cm^{-1} refere-se ao alongamento de C-H. O banda em 1539 cm^{-1} é atribuído ao estiramento do grupo -C=N- do anel imidazol e as bandas que aparecem 1477 cm^{-1} e 1373 cm^{-1} estão relacionadas ao estiramento assimétrico e simétrico do N=O. Os bandas de absorção em 1269 cm^{-1} e 1074 cm^{-1} ao alongamento do C-O e C-N (ALI; ELASALA; IBRAHIM., 2018; CIRRI *et al.*, 2021).

Figura 25. Espectro do metronidazol na região do infravermelho.



5.4. Caracterização das esferas carregadas com metronidazol

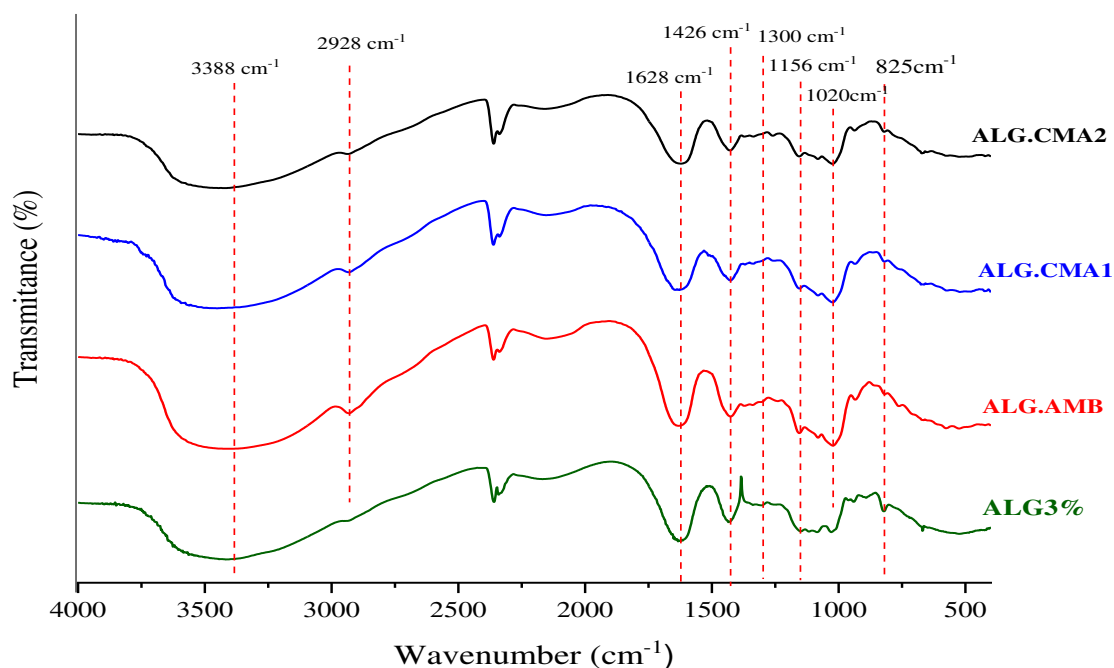
5.4.1. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Para a investigação das interações entre os grupos funcionais dos polissacarídeos e comprovar a presença do fármaco metronidazol, foi usada a espectroscopia de absorção na

região do infravermelho para a caracterização das amostras de ALG3%, ALG.AMB, ALG.CMA1 e ALG.CMA2, representada na figura 24.

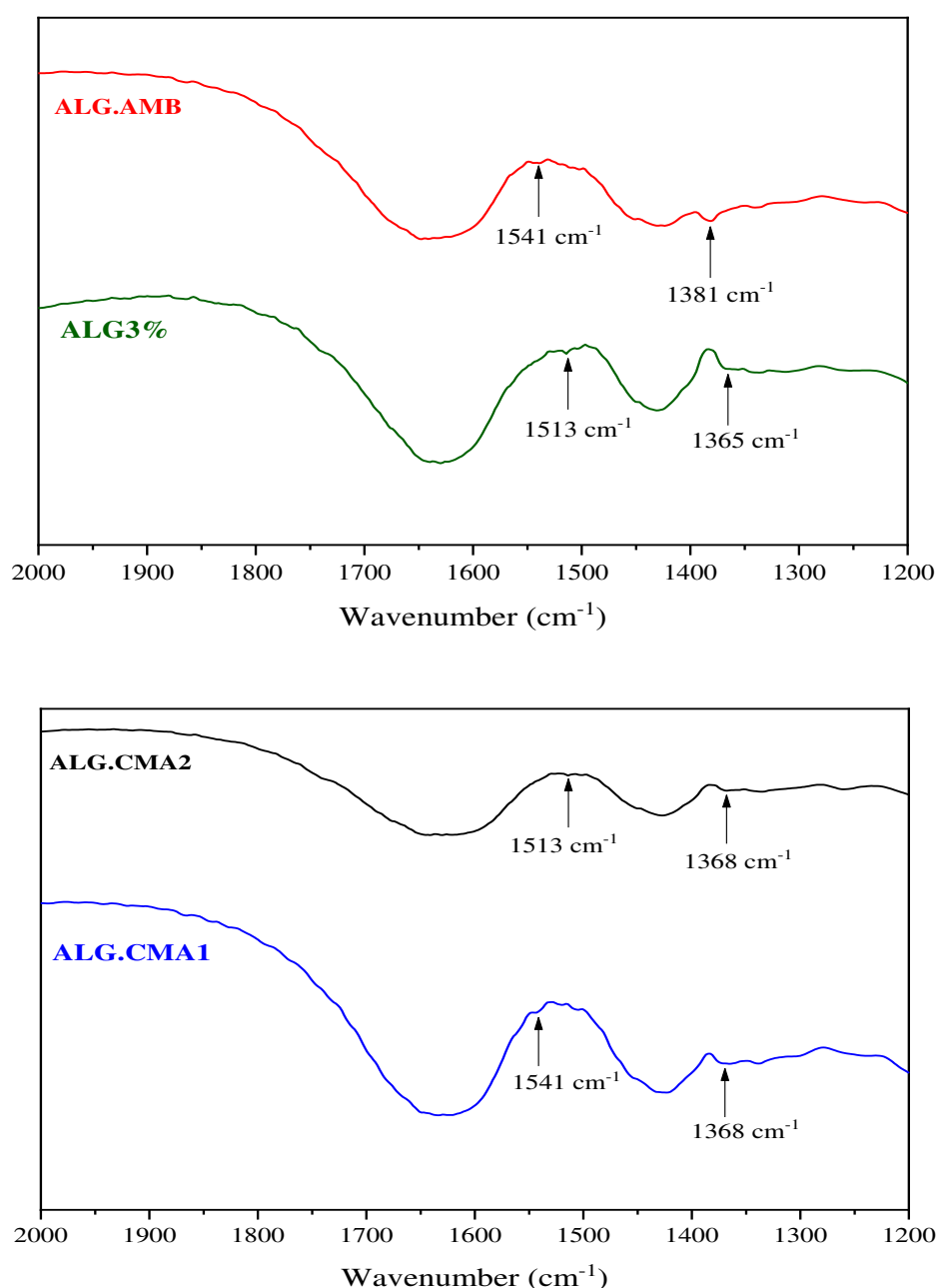
A faixa de absorção em torno de 3388 cm^{-1} refere-se a interação intermolecular das ligações de hidrogênio do grupo O-H presentes no amido e alginato, resultando em um deslocamento para um número de onda mais baixo, quando comparado ao espectro de ALG e AMB. Foram encontradas bandas características do AMB e CMA em 2938 cm^{-1} associada ao estiramento simétrico do C-H, em 1156 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} referentes as vibrações de estiramento da ligação $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$. Os espectros também exibem bandas em 1628 cm^{-1} e 1426 cm^{-1} atribuídas a vibrações assimétricas e simétricas de -COO^- presentes no ALG e CMA. Ambos as bandas sofreram deslocamento que pode estar associado ao *crosslinking* com os íons Ca^{2+} (FERNANDES *et al.*, 2019; THOMAS; MATHEW; NATH, 2021). Outras mudanças associadas as interações entre o ânion carboxilato e os íons Ca^{2+} são observadas em 1300 cm^{-1} e 825 cm^{-1} , como a diminuição e/ou desaparecimento das bandas referentes a vibração do C-O-C presente na estrutura do ALG. Essas mudanças evidenciaram as interações intermoleculares entre o ALG/AMB e ALG/CMA, demonstrando uma compatibilidade molecular.

Figura 26. Espectros de ALG3%, ALG.AMB, ALG.CMA1 e ALG.CMA2 na região do infravermelho.



Os espectros das esferas carregadas com o fármaco MTZ está representado na figura 25. Quando comparados aos resultados da figura 23, observa-se a presença de bandas que variam entre 1513-1541 cm^{-1} referentes ao estiramento assimétrico grupo $-\text{C}=\text{N}-$ e bandas em 1365-1381 cm^{-1} , associadas ao estiramento simétrico do $\text{N}=\text{O}$. As bandas apresentaram baixa intensidade, principalmente nos espectros de ALG3% e ALG.CMA2 onde foi possível observar um deslocamento da banda para 1513 cm^{-1} , resultado de possíveis interações entre os íons carboxilatos e o grupo nitro, no entanto, foi possível observar indicativos da presença da droga na matriz polimérica (figura 25).

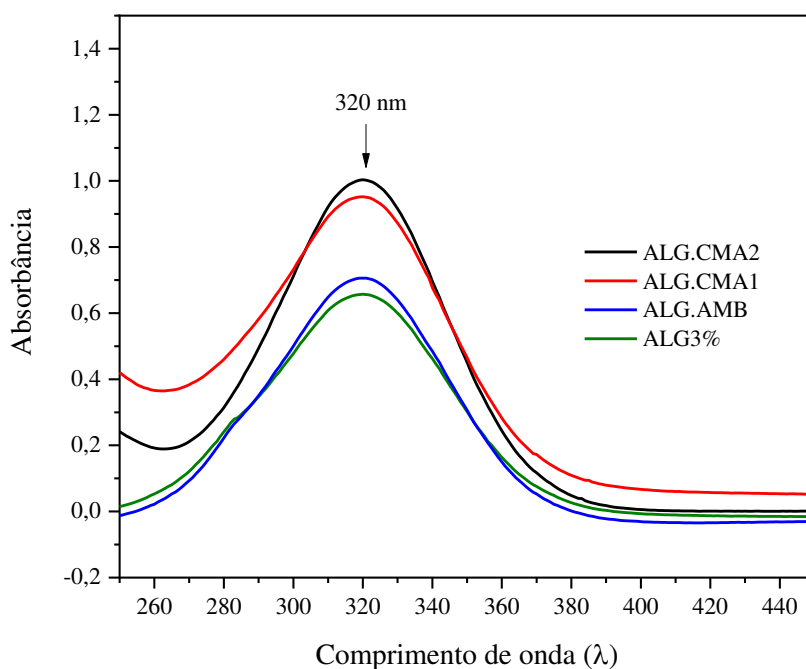
Figura 27. Faixa espectral reduzida entre 1200 cm^{-1} e 2000 cm^{-1} .



5.4.2. Espectroscopia de absorção molecular

A absorção de radiação eletromagnética do fármaco metronidazol incorporado nas matrizes poliméricas são apresentadas na figura 26. O metronidazol absorve em 320 nm, sem a presença de polímeros em meio neutro, como mostrado no resultado da secção 5.3.1. Assim, após a dissolução dos sistemas em tampão fosfato pH 7,4, foi possível a detecção do MTZ pelo método empregado. Observa-se que as bandas crescem de acordo com a presença do amido e aumento do grau de substituição do carboximetilamido, mostrando que a proporcionalidade entre a absorbância e a quantidade de metronidazol incorporado em cada amostra. Pela técnica de absorção na região do infravermelho não foi possível observar bandas características do agente ativo, entretanto, por espectrofotometria na região UV foi comprovada a presença do MTZ nas esferas, com bandas acentuadas no comprimento de onda característico do fármaco.

Figura 28. Espectros de absorção do fármaco Metronidazol presente nas esferas poliméricas.

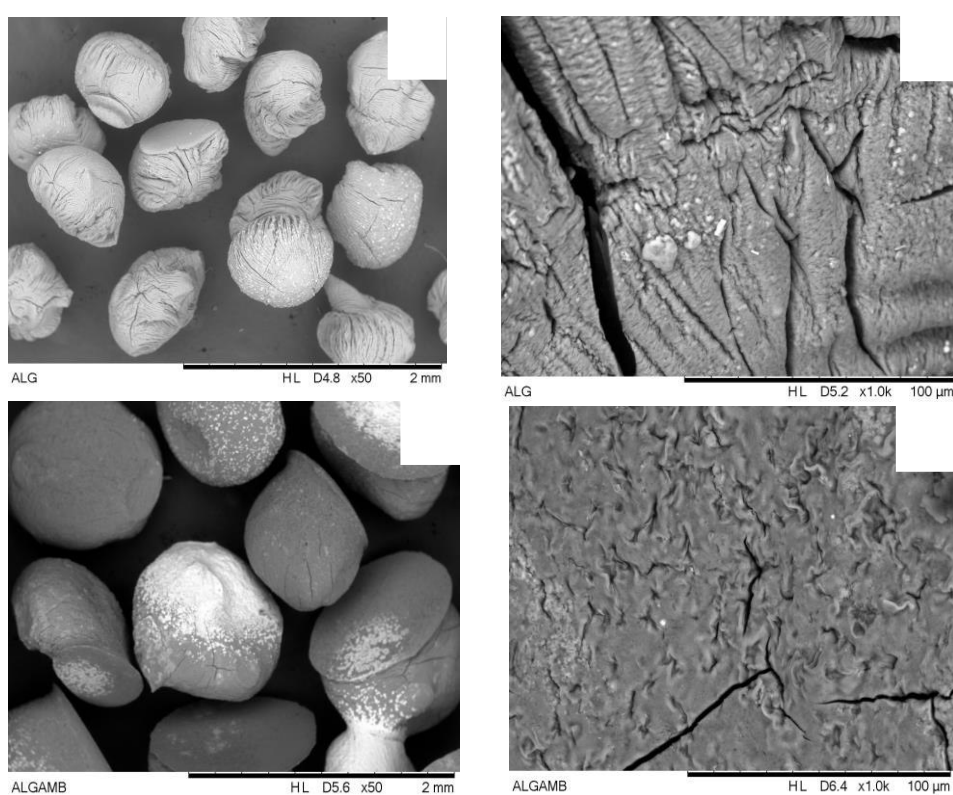


5.4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As figuras 26 apresentam micrografias das esferas ALG3%, ALG.AMB, ALG.CMA1 e ALG.CMA2 contendo o MTZ. As esferas de ALG3% (Figura 27a e b) apresentaram superfícies rugosas e irregulares composta por várias fissuras, que são derivadas do processo

de secagem. Os géis de alginato de sódio são compostos 99% de água, então, as esferas obtidas por gelificação ionotrópica consegue resistir a diferentes tensões devido a homogeneidade controlada pela adição dos íons Ca^{2+} , no entanto, a secagem induz a perda do formato esférico, formando uma estrutura com inúmeras rupturas. Observações semelhantes foram verificadas por Chan *et al.*, (2011), que associou essa estrutura ao processo de gelificação externa, que se inicia na superfície e segue em direção ao interior da conta de alginato.

Figura 29. Micrografias obtidas por MEV das esferas de a) ALG3% com ampliação de 50x e 1000x e das esferas de b) ALG.AMB com ampliação de 50x e 1000x.

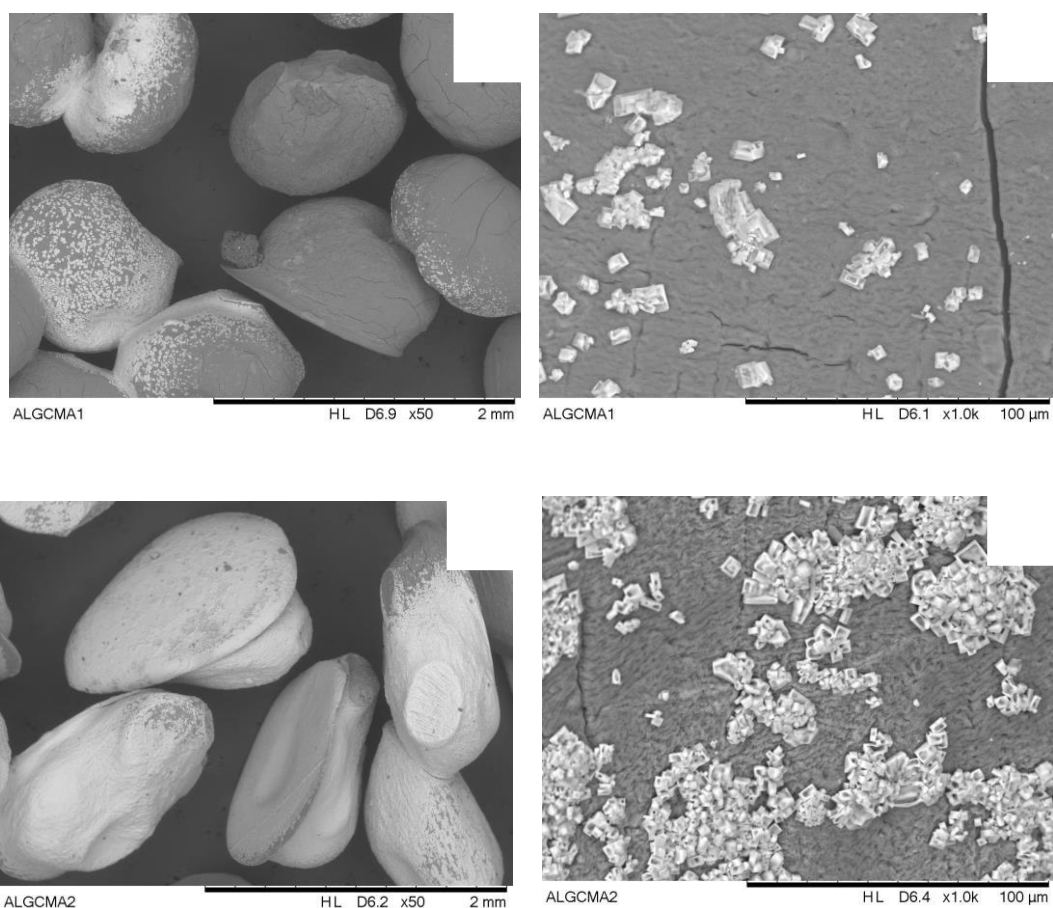


A mistura de AMB e ALG (27c e d) resultou em esferas lisas, sendo possível observar a redução das fissuras na superfície das matrizes, comprovando a atuação dos grânulos de amido no preenchimento dos géis de alginato. Observa-se também uma mudança no tamanho das esferas que pode ser atribuído ao aumento da viscosidade com a inserção do amido. Nas esferas, amido se desempenha como suporte estrutural, impedindo o encolhimento da matriz e a presença de rachaduras após a secagem das amostras (LOZANO-VASQUEZ *et al.*, 2015).

A estrutura das amostras de ALG.CMA1 e ALG.CMA2 são mostrados na Figura 28. Observa-se uma mudança na estrutura das esferas contendo o carboximetilado, com superfícies mais uniformes e compactas, quando comparadas as esferas de ALG.AMB. As amostras de

ALG.CMA1 apresentaram uma superfície lisa enquanto as amostras de ALG.CMA2 apresentaram uma superfície parcialmente lisa com a presença de rugosidades. Essas alterações são resultadas da exclusão da estrutura cristalina do amido após o tratamento em ambiente alcalino, permitindo a ação do agente eterificante dentro da molécula (WANG *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2020). Também foi possível averiguar a diminuição das rachaduras com o aumento do grau de substituição mostrando uma boa interação entre o alginato e o amido modificado, sendo ambos aniônicos. A presença de vários cristais do ácido cloroacético pode ser observado na superfície das esferas, não sendo totalmente eliminados durante a lavagem do CMA após a reação de eterificação.

Figura 30. Micrografias obtidas por MEV das esferas de a) ALG.CMA1 com ampliação de 50x e b) 1000x e das esferas de c) ALG.CMA2 com ampliação de 50x e d) 1000x.

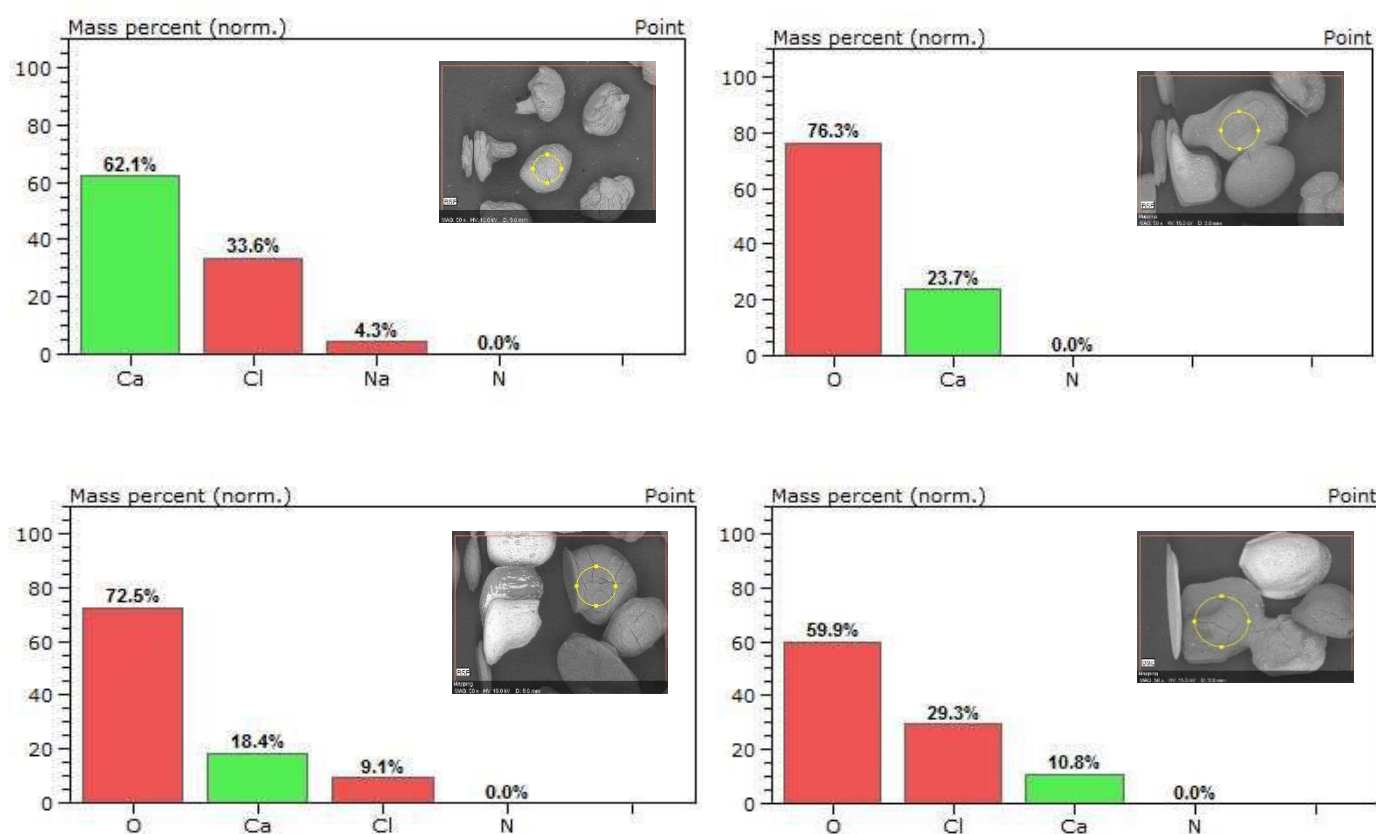


De modo geral, foi comprovada a estabilidade das esferas obtidas, que melhoraram com a inserção do amido e com o aumento do GS do CMA. Não foi possível visualizar resquícios do metronidazol na superfície das amostras, evidenciando a solubilidade do fármaco em água, bem como a sua dispersão nas matrizes.

5.4.4. Espectroscopia Por Dispersão De Energia (EDS)

Na figura 29 encontra-se os resultados da análise composicional por espectroscopia por dispersão de energia (EDS) dos sistemas poliméricos.

Figura 31. Gráfico dos resultados da análise de EDS das amostras de a) ALG3%, b) ALG.AMB, c) ALG.CMA1 e d) ALG.CMA2.



No resultado de EDS da amostra de ALG3% foram identificados elementos como cálcio, cloro e sódio. O mapeamento mostra que o Ca apresenta maior concentração nas esferas contendo apenas alginato a formação das redes tridimensionais entre o íon cálcio e as carboxilas ionizadas presentes nos blocos de ácido α -L-glucurônico. Também foram detectadas a presença de cloro e sódio, que são resquícios da troca iônica entre o alginato de sódio e cloreto de cálcio (Fig. 28a). A inserção do segundo polímero auxiliou na formação das contas, sugerindo que a presença do amido atuou como suporte estrutural, dessa forma, ocorre uma diminuição das interações entre os íons Ca^{2+} e as carboxilas ionizadas presentes nos blocos de ácido α -L-glucurônico do alginato.

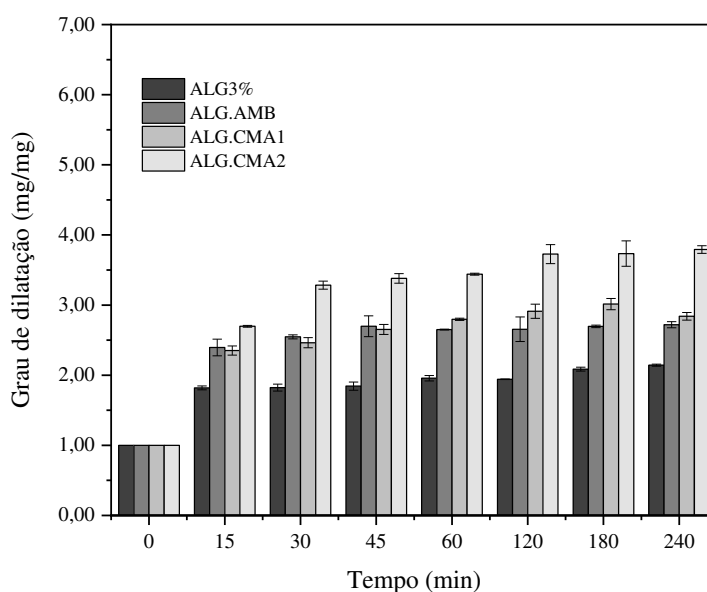
As mudanças nas propriedades físico-químicas do amido após a modificação também influenciaram na diminuição do cálcio nas esferas à base de alginato de carboximetilamido, isso porque o CMA, por ser um polímero também de natureza aniônica não pode formar gel na solução reticulante, dessa forma, a matriz obtida é resultado do preenchimento a partir da adição do segundo polímero, com baixa interação entre o alginato e Ca^{2+} . Comparado apenas o EDS das amostras contendo amido e carboximetilamido, nota-se a diminuição na concentração de oxigênio de acordo com a modificação e aumento do grau de substituição, relacionado a mudança de átomos de hidrogênio pelos grupos carboximetila. Também foi identificado o elemento cloro, em maior concentração na amostra ALG.CMA2 (DS= 0,3), corroborando com a quantidade de monocloroacético utilizada para aumentar a razão AMB/AMCA.

Objetivou-se também identificar elementos característicos do fármaco metronidazol como o Nitrogênio devido a presença do grupo nitro (NO_2) em sua estrutura molecular, todavia, nas regiões analisadas não foi detectada a presença desse elemento.

5.5. Análise de intumescimento das esferas

O estudo de intumescimento das esferas de alginato/amido *in natura* e alginato/carboximetilamido foi realizado em meio gástrico simulado (HCl 0,1 M pH 1,2) e meio entérico simulado (Tampão fosfato 0,05 M pH 7,4), com os resultados apresentados na figura 31.

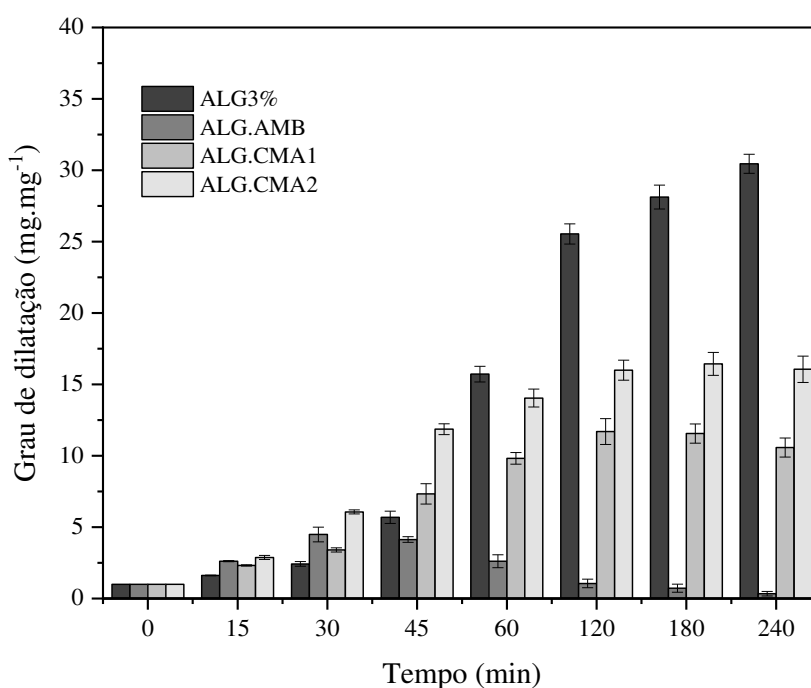
Figura 32. Comportamento do grau de inchaço das esferas de ALG, ALG.AMB, ALG/CMA1 e ALG/CMA2 em HCl 0,1 M pH 1,2.



As amostras de ALG.AMB mostraram um rápido aumento na taxa de inchaço ainda nos primeiros 15 minutos ($2,38 \pm 0,07$), depois esse inchaço mostrou-se lento e estável ($2,54 \pm 0,02$) assim como ALG3%, no entanto, o inchaço foi maior. A presença do amido permite uma fácil absorção de água na matriz que sucede pela formação de ligações entre o hidrogênio presente nas moléculas de água com os grupos hidroxilas da estrutura molecular do amido (LOZANO-VASQUEZ, *et al.*, 2015). As amostras de CMA apresentaram maior intumescimento desse estudo em meio ácido, o que era esperado pelas propriedades adquiridas a partir da modificação. A hidrofobicidade das cadeias do CMA foi proporcional ao aumento do grau de substituição, devido as forças repulsivas entre os grupos $-\text{COO}^-$, por isso o ALG.CMA2 (GS = 0,3) apresentou a maior taxa de absorção e inchaço ($3,22 \pm 0,04$) em relação as esferas de ALG.CMA1 ($2,98 \pm 0,01$).

Na figura 32, os resultados evidenciaram que em tampão fosfato, as esferas de ALG3% apresentando o maior grau de intumescimento em 4 horas ($30,45 \pm 0,67$). Isso ocorreu devido à quebra da ligação cruzada entre os grupos carboxilas do ALG e os íons de Ca^{2+} , que fora ocasionada pelos íons fosfatos PO_4^{3-} que “sequestram” os íons divalentes, dessa forma, uma forte repulsão entre os grupos $-\text{COO}^-$ acontece, expandindo as cadeias do polímero e facilitando a penetração do fluido (XU *et al.*, 2016; SONG, 2018).

Figura 33. Comportamento do grau de inchaço das esferas de ALG, ALG.AMB, ALG/CMA1 e ALG/CMA2 em Tampão fosfato 0,05 M pH 7,4.



Quanto as esferas de ALG.AMB, observa-se em 45 minutos as amostras apresentaram uma taxa de intumescimento menor que as outras amostras ($4,13 \pm 0,20$), bem como uma queda na taxa de inchaço a partir de 60 minutos ($2,61 \pm 0,45$). Esse comportamento está associado as interações intermoleculares entre as cadeias polares do alginato de sódio (aniônico) e as ligações de hidrogênio do amido (não aniônico), expandindo a rede de reticulação com o aumento do intumescimento do amido, dessa forma, a matriz inchada retarda a penetração das moléculas da solução, resultando em uma diminuição no grau de intumescimento (ROY; BAJPAI; BAJPAI, 2009).

Os resultados referentes as esferas de alginato com carboximetilamido apresentaram um grau de intumescimento maior que as amostras de ALGAMB. Além das interações intermoleculares polímero-polímero, o CMA apresenta aumento na solubilidade, consequentemente uma maior absorção, devido a desprotonação e ionização dos grupos carboxilas em pH alto, ocorrendo uma interação íon-dipolo entre o amido aniônico e as moléculas de água (ASSAAD *et al.*, 2011; POORESMAEIL; NAMAZI, 2021).

Avaliando o comportamento entre as amostras de ALGCMA, verificou-se que o aumento do grau de inchaço foi proporcional ao aumento do Grau de Substituição, ou seja a esfera contendo CMA2 (GS = 0,3) foi mais suscetível a absorção de água que a esfera contendo CMA1 (GS = 0,15). Essa diferença está associada a repulsão eletrostática entre as cadeias do carboximetilamido devido a ionização do grupo carboximetila em carboxil ($-\text{COO}^-$), resultando em uma maior expansão com aumento da densidade dos grupos carboximetil em sua estrutura. Essa repulsão também ocorre entre CMA e ALG por ambos serem aniônicos (SPYCHAJ; WILPISZEWSKA; ZDANOWICZ, 2012).

Os comportamentos de intumescimento e erosão das matrizes influenciam o controle de liberação do princípio ativo. Comparando o intumescimento das esferas nos meios de dissolução, as esferas apresentaram uma boa estabilidade em meio gástrico, com uma baixa taxa de absorção em relação ao estudo em meio entérico simulado, pois no pH 1,2, o intumescimento decorre apenas das propriedades do amido enquanto que em pH7,4, o inchaço aumenta devido as propriedades do alginato e da sua interação intermolecular com AMB e CMA nesse meio.

5.6. Análise de erosão das esferas

A taxa de erosão a partir da interação do ALG/AMB e ALG/CMA foi investigada a partir da variação em peso e Grau de Substituição (Tabela 4).

As esferas de ALG3% sofreram uma perda de $30,8 \pm 7,92\%$ da massa inicial devido a interação do alginato e o tampão fosfato. As esferas de ALG.AMB apresentou a maior taxa de erosão, perdendo $59,4 \pm 2,33\%$ da massa da matriz. Esse comportamento está associado a quantidade de amido adicionada a matriz polimérica que enfraqueceu as forças intermoleculares entre os polissacarídeos, desestabilizando os grânulos na presença do meio simulado, permitindo a entrada de moléculas e ocasionando uma erosão imediata.

Tabela 4. Valores da taxa de erosão das esferas poliméricas após imersão em meio entérico simulado.

Amostras	Massa final das esferas (mg)	Erosão (%)
ALG3%	$69,20 \pm 7,92$	$30,8 \pm 7,92$
ALG.AMB	$40,65 \pm 2,33$	$59,4 \pm 2,33$
ALG.CMA1	$62,30 \pm 1,84$	$37,7 \pm 1,84$
ALG.CMA2	$85,20 \pm 6,36$	$14,8 \pm 6,36$

As amostras de ALG.CMA1 e ALG.CMA2 também apresentaram uma diminuição na massa obtendo uma taxa de erosão de $37,7 \pm 1,84$ e $14,8 \pm 6,36$. Comparando com o valor da taxa de erosão do ALG.AMB, observa-se que a taxa de erosão diminuiu após a modificação e de acordo com o aumento do grau de substituição. O inchaço dessas amostras é causado pela ionização do $-\text{COOH}$, levando a uma repulsão que expande a rede polimérica e relaxa as cadeias, no entanto, a desintegração inicia de imediato (LI *et al.*, 2019).

5.7. Eficiência de encapsulamento (EE)

A partir da curva de calibração do MTZ em tampão fosfato, foi possível obter os valores do fármaco incorporado e calcular conforme a equação descrita na seção 4.9. Para as esferas de ALG3% com metronidazol incorporado obteve-se uma EE de $36,0\% \pm 5,40$, enquanto a EE das esferas de ALG.AMB foi $53,0\% \pm 4,23$. As matrizes contendo somente alginato apresentaram um valor relativamente baixo enquanto a adição do amido melhorou a eficiência de encapsulamento das esferas alginato/amido.

Como previsto, houve a lixiviação do princípio ativo durante a gelificação devido à alta porosidade do ALG. Assim, a introdução do AMB preencheu o hidrogel, modificando o comportamento mecânico da superfície das esferas. Esses dados estão em concordância com os resultados encontrados literatura. Biswas e Sahoo (2016) verificaram que a mistura de amido de tapioca melhorou significativamente a eficiência da armadilha em 88%. Os compósitos estudados por Nayak *et al.*, (2018) apresentaram resultados elevados de EE após a mistura dos polímeros, com valores que variaram entre 58,5% e 87,3%.

A eficiência de encapsulamento do metronidazol em esferas de ALG.CMA1 foi de $69,57\% \pm 3,94$. Já para as esferas de ALG.CMA2, a EE encontrada foi de $73,89\% \pm 5,22$. Os valores da eficiência nas matrizes contendo o amido aniônico foram maiores que os obtidos pelas esferas com amido *in natura*. Apesar do AMB melhorar as propriedades das esferas, por outro lado, os grânulos do amido ocupam espaços dentro dos hidrogéis, reduzindo a quantidade de metronidazol incorporado (HASSAN *et al.*, 2020). Quanto ao CMA, é provável que os grupos hidroxila e carboximetila presentes em sua estrutura interajam com o fármaco, evitando assim a difusão do MTZ durante a formação das esferas (QUADRADO; FARJADO, 2020).

5.8. Liberação *in vitro* do fármaco Metronidazol

Os perfis de liberação *in vitro* do fármaco metronidazol nos meios gástrico e entérico simulado a 37 °C são mostrados nas figuras 33 e 34.

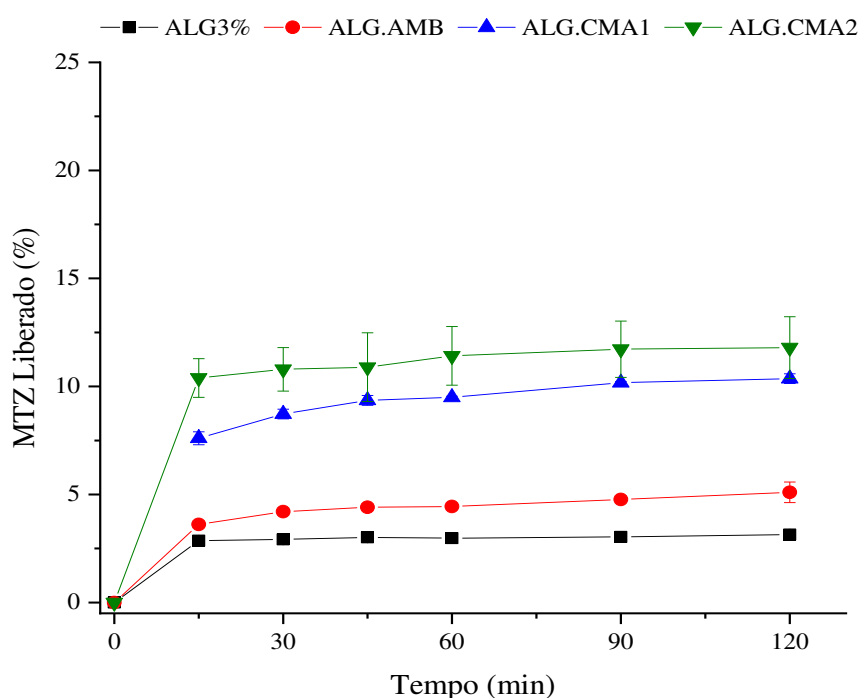
5.8.1. Perfil de liberação em meio gástrico simulado

A figura 33 representa a liberação do MTZ em meio gástrico simulado. As dissoluções em pH 1,2 variaram entre $2,89 \pm 0,05\%$ - $11,80 \pm 1,43\%$ em 2 horas de experimento. Todas as amostras apresentaram uma liberação gradativa durante os intervalos. As amostras ALGCMA1 e ALGCMA2 apresentaram as maiores porcentagens de dissolução em pH 1,2, enquanto as esferas de ALG.AMBG e ALG3% apresentaram as menores porcentagem de liberação.

As esferas com CMA intumesceram rapidamente por causa da sua natureza hidrofílica, assim, o fármaco presente na superfície foram liberados ainda nos primeiros minutos através da difusão das cadeias. As esferas com amido nativo mostraram um controle de liberação pela formação da rede polimérica através das cadeias do AMB e ALG (BIWAS; SAHOO, 2016).

As amostras de ALG3% mantiveram suas cadeias protonadas, formando ligações de hidrogênio e impedindo a entrada das moléculas de água pelas porosidades formadas na reticulação ALG-Ca (SONG, 2018).

Figura 34. Perfil de liberação das esferas em meio gástrico simulado.



5.8.2. Perfil de liberação em meio entérico simulado

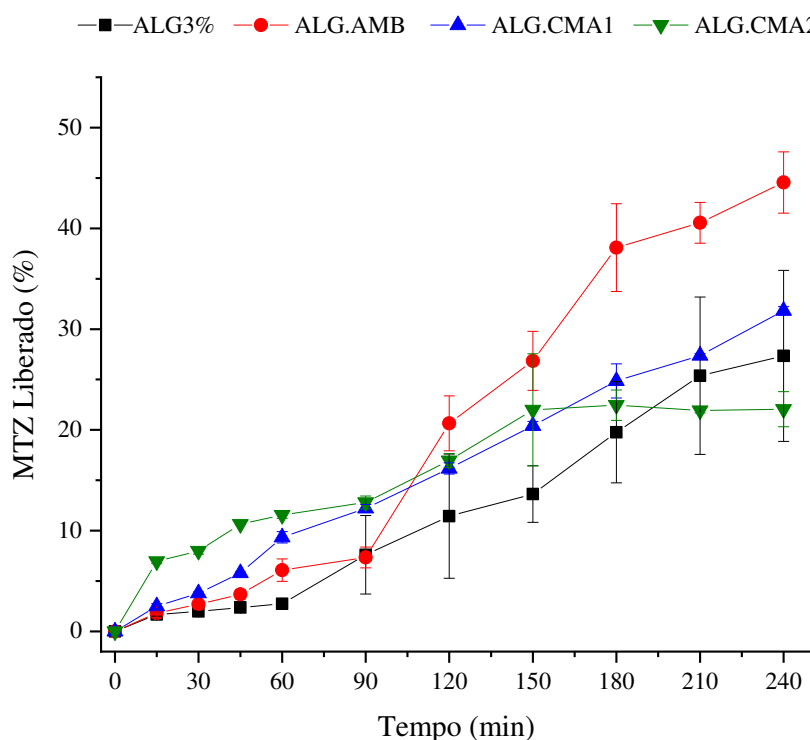
A figura 34 representa a liberação do MTZ em meio entérico simulado. As dissoluções em pH 7,4 variaram entre 1,67% – 44,56% em 4 horas de experimento.

Foi possível observar que as amostras de ALG.AMB a maior porcentagem de dissolução. Em 90 minutos de ensaio, as amostras liberaram apenas 7,34-% do fármaco, referentes a solubilização do MTZ presente na superfície das esferas, mas em 120 minutos já havia sido liberado 20,65% de MTZ e em 4 horas de ensaio foram liberados 44,56% do princípio ativo. As fissuras observadas na superfície das amostras de ALG.AMB (figura 26d) pode ter sido responsável pelo aumento da dissolução do fármaco em condições gastrointestinais, além da obstrução das amostras causadas pela alta concentração de AMB na matriz (LOZANO-VASQUEZ *et al.*, 2015).

As amostras de ALG3%, ALG.CMA1 e ALG.CMA2 apresentaram uma melhoria na dissolução do fármaco. As esferas de ALG3% apresentaram uma constância na liberação do

MTZ durante os 60 minutos iniciais, liberando aproximadamente 2,74% de metronidazol. Em 120 minutos de ensaio, o sistema apresentava 15,8% de metronidazol liberado e 4 horas já havia liberado aproximadamente 27,35% do princípio ativo, uma taxa significativamente menor que a liberada por ALG.AMB. Apesar do alginato se desintegrar rapidamente em meio fosfato, a sua erosão é menos acentuada que a das amostras com amido nativo que, dependendo da quantidade, provoca o enfraquecimento das forças intermoleculares entre os polissacarídeos, permitindo a interação entre a água e a cadeia polimérica, resultado em uma rápida deterioração, como foi comprovado na análise de erosão.

Figura 35. Perfil de liberação das esferas em meio entérico simulado.



Quanto ao comportamento das esferas de ALG.CMA, constatou-se que as amostras contendo CMA1 e CMA2 liberaram aproximadamente 2,5% e 7% do fármaco nos primeiros 15 minutos de ensaio. Essa rápida liberação está associada tanto a solubilização rápida do MTZ presente na área superficial das esferas como ao relaxamento imediato das cadeias do carboximetilamido. Em pH 7,4, o grupo -COOH do CMA foram convertidos em -COO⁻, ocasionando uma repulsão entre os íons carboxilatos e expandido a rede polimérica, desse modo, as esferas ALG.CMA2 (GS=0,3) apresentaram uma taxa de liberação maior que ALG.CMA1 (GS=0,15) (Li *et al.*, 2019). Comparando o perfil de liberação das amostras de CMA, observa-se que as esferas ALG.CMA1 liberaram 24,86% de metronidazol e esferas

ALG.CMA2 apresentaram aproximadamente 22,50% de metronidazol liberado. Ou seja, com o aumento do grau de substituição, as amostras com CMA2 mantiveram a mesma taxa de dissolução até o término do experimento, enquanto as amostras com CMA1 mostrou perfil continuado, liberando durante todo o ensaio e em 4 horas havia liberado 31,83% do fármaco metronidazol.

Mediante esses resultados, as esferas obtidas apresentaram diferenças notórias em relação ao perfil de liberação do fármaco metronidazol. Foi possível evidenciar que a dissolução depende do pH e da ação das matrizes nesse meio. No geral, as misturas poliméricas de ALG.AMB e ALG.CMA apresentaram um comportamento significativo no controle de liberação, sendo excipientes promissores para a entrega de medicamentos pelas suas vantagens em relação aos sistemas convencionais.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo avaliar esferas à base de alginato de sódio e amido extraído do mesocarpo do babaçu como uma matriz para a liberação controlada do fármaco metronidazol. Com o intuito de melhorar as propriedades do amido, uma modificação foi realizada a partir de uma síntese usando ácido cloroacético como agente eterificante. Para a obtenção de carboximetilamido com diferentes graus de substituição, foram utilizadas diferentes quantidades do ácido cloroacético no meio reacional composto por hidróxido de sódio e álcool etílico. Os amidos aniônicos obtidos apresentaram GS nos valores de 0,15 e 0,3, que foram analisados por titulação reversa. O resultado confirmou que o grau de substituição aumenta de acordo com a razão molar ácido cloroacético/amido.

As análises físico-químicas do AMB e CMA comprovaram que a carboximetilação ocorreu. Os padrões FTIR apresentaram bandas características dos grupos carboxílicos, bem como a redução das bandas concernentes aos grupos hidroxilas. Através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi possível observar mudanças na morfologia dos grânulos, resultante da modificação química. Avaliando os resultados obtidos por DSC, foi possível confirmar que após a modificação, sofreu uma perda de cristalinidade, comprovado pela temperatura de fusão. O estudo de solubilidade e intumescimento das amostras do AMB e CMA mostrou que essas propriedades foram melhoradas após a modificação devido à natureza hidrofílica do carboximetilamido. Foi verificado através do teor de amilose que houve a redução da molécula na estrutura amilácea.

As esferas carregadas com metronidazol foram obtidas através da gelificação ionotrópica a partir do gotejamento das suspensões em uma solução de CaCl_2 . A interação entre os polissacarídeos e a incorporação do fármaco foram comprovadas pelos resultados do FTIR e MEV. Pela análise EDS foi possível detectar elementos característicos das matrizes reticuladas e do amido modificado, bem como as alterações percentuais ocorridas após a mistura polimérica. Um estudo de absorção molecular na região do ultravioleta comprovou a presença do fármaco metronidazol incorporado nas esferas. O estudo de intumescimento e erosão das esferas mostrou que a capacidade de absorção das esferas foi melhorada com o CMA e que a erosão foi diminuída com o aumento do grau de substituição do amido aniônico.

A eficiência de encapsulamento variou de acordo com a composição das esferas. Nas esferas de alginato e alginato/amido *in natura* a EE foi $35,99\% \pm 5,40$ e $53\% \pm 4,23$. Os baixos valores de eficiência encontrados para essas amostras são resultados da lixiviação do fármaco

durante a preparação das esferas. Já para as esferas de alginato/carboximetilamido, a EE obtida foi $69,57\% \pm 3,94$ e $73,89\% \pm 5,22$, que variou com o aumento do grau de substituição. Esses valores podem estar relacionados com a interação entre o metronidazol e a matriz aniônica.

Os ensaios de liberação demonstraram que em meio gástrico, as esferas de ALG3% apresentaram os melhores resultados no controle da liberação, sugerindo uma gastrorresistência em pH baixo. No entanto, em meio entérico simulado, as amostras de ALG.CMA2 apresentaram uma liberação controlada, mantendo a mesma taxa de dissolução até o término do experimento.

Diante dos resultados obtidos, foi possível averiguar o potencial das esferas de alginato/amido como excipientes. Suas propriedades permitem que os sistemas sejam adaptados de acordo com o meio de liberação a partir da proporção alginato:amido e dos vários graus de substituição do carboximetilamido. Com a revisão de literatura feita, pode-se deduzir que o estudo da carboximetilação do amido do mesocarpo do babaçu seja inédito, por isso, são necessários outros estudos para explorar as propriedades da farinha modificada.

REFERÊNCIAS

ADELEKE, O.A. **PREMIUM ETHYLCELLULOSE POLYMER BASED ARCHITECTURES AT WORK IN DRUG DELIVERY.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS: X. v.1, 2019.

AHNFELT, E. *et al.* **A MINIATURIZED IN VITRO RELEASE METHOD FOR INVESTIGATING DRUG-RELEASE MECHANISMS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.486, n.1-2, p.339-349, 2015.

AKCELRUD, L. **FUNDAMENTOS DA CIÊNCIA DOS POLÍMEROS.** 1ª EDIÇÃO. BARUERI, SP: MANOLE, 2007.

ALAUZET, C. LOZNIEWSKI, A. MARCHANDIN, H. **METRONIDAZOLE RESISTANCE AND NIM GENES IN ANAEROBES: A REVIEW.** ANAEROBE. v.55, p. 40-53. 2018.

ALENCAR, G.O. *et al.* **LIBERAÇÃO PROLONGADA DE FÁRMACOS E SUAS APLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS: REVISÃO SISTEMÁTICA.** REV. E-CIÊNCIA. vol.1, n.1, p.1-6, 2018.

ALI, A.E.; ELASALA, G.S.; IBRAHIM, R.S. **SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, SPECTRAL, THERMAL ANALYSIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES OF METRONIDAZOLE COMPLEXES.** JOURNAL OF MOLECULAR STRUCTURE. v.1176, p.673-684, 2018ELA.

ALMEIDA, I.F. *et al.* **BACTERIAL CELLULOSE MEMBRANES AS DRUG DELIVERY SYSTEMS: AN IN VIVO SKIN COMPATIBILITY STUDY.** European JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS. v.86, n.3, p.332-336, 2014.

AMAGLIANI, L. *et al.* **CHEMISTRY, STRUCTURE, FUNCTIONALITY AND APPLICATIONS OF RICE STARCH.** JOURNAL OF CEREAL SCIENCE. v.70, p.291-300, 2016.

AMARAL, H. R. *et al.* **PRODUCTION OF HIGH-PURITY CELLULOSE, CELLULOSE ACETATE AND CELLULOSE-SILICA COMPOSITE FROM BABASSU COCONUT SHELLS.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.210, p.127-134, 2019.

ASSAAD, E. *et al.* **POLYELECTROLYTE COMPLEX OF CARBOXYMETHYL STARCH AND CHITOSAN AS DRUG CARRIER FOR ORAL ADMINISTRATION.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.84, n.4, p.1399-1407, 2011.

ASSAD, E.; MATEESCU, M.A. **THE INFLUENCE OF PROTONATION RATIO ON PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL STARCH EXCIPIENT AT VARIOUS SUBSTITUTION DEGREES: STRUCTURAL INSIGHTS AND DRUG RELEASE KINETICS.** v.394, n.1-2, p.75-84, 2010.

AZEVEDO, P. A. *et al.* **ANTI-THROMBOTIC EFFECT OF CHRONIC ORAL TREATMENT WITH ORBIGNYA PHALERATA MART. JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY.** v. 111, p. 155–159, 2007.

AZEVEDO, M. M. **SISTEMAS POLIMÉRICOS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA UTILIZANDO MICRO E NANOPARTICULAS ENCAPSULANDO VIOLACEINA: CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE BIOLÓGICA, CONSEQUÊNCIAS E PERSPECTIVA.** INSTITUTO DE QUÍMICA, TESE DE DOUTORADO, UNICAMP, 2005.

AGÜERO, L. *et al.* **ALGINATE MICROPARTICLES AS ORAL COLON DRUG DELIVERY DEVICE: A REVIEW.** CARBOHYDRAE POLYMERS. v.168, p.32-43, 2017.

BARROS, I. C. *et al.* **EVALUATION OF THE POTENTIAL OF MESOCARP BABASSU POWDER AS A TECHNOLOGICAL EXCIPIENT TO PHARMACEUTICAL INDUSTRY - PART I.** MATERIALS SCIENCE FORUM. v.869, p.874-879. 2016. v.93, p.281-292, 2015.

BASTOS ARARUNA, F. *et al.* **GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING BABASSU MESOCARP STARCH (ATTALEA SPECIOSA MART. EX SPRENG.) AND THEIR ANTIMICROBIAL APPLICATIONS.** ENVIRONMENTAL NANOTECHNOLOGY, MONITORING & MANAGEMENT. v.13, p.100281, 2020.

BIDUSKI, B. *et al.* **STARCH HYDROGELS: THE INFLUENCE OF THE AMYLOSE CONTENT AND GELATINIZATION METHOD.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.113, p.443-449, 2018.

BISWAS, N.; SAHOO, R.K. **TAPIOCA STARCH BLENDED ALGINATE MUCOADHESIVE-FLOATING BEADS FOR INTRAGASTRIC DELIVERY OF METOPROLOL TARTRATE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.83, p.61-70, 2016.

BIZERRA, A.; SILVA, V. **SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: MECANISMOS E APLICAÇÕES.** REVISTA SAÚDE E MEIO AMBIENTE. v. 3, n.2, p. 1-12, 2016.

CAI, X. *et al.* **STABILITY OF PH-RESPONSIVE PICKERING EMULSION STABILIZED BY CARBOXYMETHYL STARCH/XANTHAN GUM COMBINATIONS.** FOOD HYDROCOLLOIDS. v.109, p. 106093, 2020.

CALORI, I.R. *et al.* **POLYMER SCAFFOLDS AS DRUG DELIVERY SYSTEMS.** EUROPEAN POLYMER JOURNAL. v. 129, 2020.

CALABRESE, I. *et al.* **MONTMORILLONITE NANODEVICES FOR THE COLON METRONIDAZOLE DELIVERY.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.457, n.1, p.224-236, 2013.

CARVALHO, L.M. **OBTENÇÃO DE FILMES A PARTIR DO MESOCARPO DO BABAÇU PARA LIBERAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS**. PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, UFMA, 2019.

CASAS, M.; LEYVA, A.A.; CARABALLO, I. **TOWARDS. A RATIONAL BASIS FOR SELECTION OF EXCIPIENTS: EXCIPIENT EFFICIENCY FOR CONTROLLED RELEASE**. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.494, n.1-2, p. 288-295, 2015.

CELEBIOGLU, A.; UYAR, T. **METRONIDAZOLE/HYDROXYPROPYL-B-CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEX NANOFIBROUS WEBS AS FAST-DISSOLVING ORAL DRUG DELIVERY SYSTEM**. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.572, p.118828, 2019.

CHAN, E.S. *et al.* **EFFECT OF FORMULATION OF ALGINATE BEADS ON THEIR MECHANICAL BEHAVIOR AND STIFFNESS**. PARTICUOLOGY. v.9, n.3, p.228-234, 2011.

CHAN, S.Y. *et al.* **RICE STARCH THIN FILMS AS A POTENTIAL BUCCAL DELIVERY SYSTEM: EFFECT OF PLASTICISER AND DRUG LOADING ON DRUG RELEASE PROFILE**. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.562, p.203-211, 2019.

CHANG, D. *et al.* **DISULFIDE CROSS-LINKED NANOSPHERES FROM SODIUM ALGINATE DERIVATIVE FOR INFLAMMATORY BOWEL DISEASE: PREPARATION, CHARACTERIZATION, AND IN VITRO DRUG RELEASE BEHAVIOR**. CARBOHYDRATE POLYMERS. v.88, n.2, p.663-669, 2012.

CHEN, J. *et al.* **STARCH FILM-COATED MICROPARTICLES FOR ORAL COLON-SPECIFIC DRUG DELIVERY**. CARBOHYDRATE POLYMERS. v. 191, p. 242–254, 2018.

CIRRI, M. *et al.* **DEVELOPMENT AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF CHITOSAN AND CHITOSAN-ALGINATE MICROSPHERES FOR VAGINAL ADMINISTRATION OF METRONIDAZOLE**. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.598, p.120375, 2021.

COPELAND, L. *et al.* **FORM AND FUNCTIONALITY OF STARCH**. FOOD HYDROCOLLOIDS. v. 23, n.6, p. 1527-1534, 2009.

COSTA, A.K.O. **ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E NUTRICIONAIS DA AMÊNDOA E ÓLEO DE COCO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata* Mart.) E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE PÃES E BISCOITOS PREPARADOS COM AMÊNDOAS**. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E DE ALIMENTOS, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, UFC, 2014.

DAS, D.; JHA, S.; KUMAR, K. J. **EFFECT OF CARBOXYMETHYLATION ON PHYSICOCHEMICAL AND RELEASE CHARACTERISTICS OF INDIAN PALO STARCH.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.77, p.181–187, 2015.

DAUT, R.M. *et al.* **DETERMINATION OF PROPERTIES OF PINHÃO STARCH: ANALYSIS OF ITS APPLICABILITY AS PHARMACEUTICAL EXCIPIENT.** INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS. v.52, p.420-29, 2014.

DENARDIN, C.C.; SILVA, L. P. **ESTRUTURA DOS GRÂNULOS DE AMIDO E SUA RELAÇÃO COM PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.** CIÊNCIA RURAL. v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

DHAMECHA, D. *et al.* **APPLICATIONS OF ALGINATE MICROSPHERES IN THERAPEUTICS DELIVERY AND CELL CULTURE: PAST, PRESENT AND FUTURE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.569, p.118627, 2019.

DOZIE-NWACHUKWU, S.O. *et al.* **EXTRACTION AND ENCAPSULATION OF PRODIGIOSIN IN CHITOSAN MICROSPHERES FOR TARGETED DRUG DELIVERY.** MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING C. v. 71, p.268-278, 2017.

EASTWOOD, E. *et al.* **METHODS TO IMPROVE THE PROPERTIES OF POLYMER MIXTURES: OPTIMIZING INTERMOLECULAR INTERACTIONS AND COMPATIBILIZATION.** POLYMER. v.46, n.12, p.3957-3970, 2005.

ELDER, D.P.; KUENTZ, M.; HOLM, R. **PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS — QUALITY, REGULATORY AND BIOPHARMACEUTICAL CONSIDERATIONS.** EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. v.87, p.88-99, 2016.

ESMAEILI, A.; BEHZADI, S. **PERFORMANCE COMPARISON OF TWO HERBAL AND INDUSTRIAL MEDICINES USING NANOPARTICLES WITH A STARCH/CELLULOSE SHELL AND ALGINATE CORE FOR DRUG DELIVERY: IN VITRO STUDIES.** COLLOIDS AND SURFACES B: BIOINTERFACES. v.158, p.556-561, 2017.

FARRAG, Y. *et al.* **STARCH FILMS LOADED WITH DONUT-SHAPED STARCH-QUERCETIN MICROPARTICLES: CHARACTERIZATION AND RELEASE KINETICS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.118, p.2202-2207, 2018.

FELTRE, G. *et al.* **ALGINATE AND CORN STARCH MIXED GELS: EFFECT OF GELATINIZATION AND AMYLOSE CONTENT ON THE PROPERTIES AND IN VITRO DIGESTIBILITY.** FOOD RESEARCH INTERNATIONAL. v.132, p. 109069, 2020.

FERNANDES, R.S. *et al.* **DEVELOPMENT OF ALGINATE/STARCH-BASED HYDROGELS CROSSLINKED WITH DIFFERENT IONS: HYDROPHILIC,**

KINETIC AND SPECTROSCOPIC PROPERTIES. MATERIALS TODAY COMMUNICATIONS. v.21, p. 100636, 2019.

FERNANDES, R.S.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A. **OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS INTERCALADOS PARA POSSÍVEL APLICAÇÃO NA ÁREA MÉDICA.** QUÍMICA NOVA. v.40, n.1, p.60-67, 2017.

FERRARI, P.C. *et al.* **DEVELOPMENT AND IN VITRO EVALUATION OF COATED PELLETS CONTAINING CHITOSAN TO POTENTIAL COLONIC DRUG DELIVERY.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.91, n.1, p.244-252, 2013.

FREIBERG, S.; ZHU, X. X. **POLYMER MICROSPHERES FOR CONTROLLED DRUG RELEASE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v. 282, n. 1–2, p. 1–18, 2004.

FREITAS, E.D. *et al.* **DEVELOPMENT OF MUCOADHESIVE SERICIN/ALGINATE PARTICLES LOADED WITH IBUPROFEN FOR SUSTAINED DRUG DELIVERY.** PARTICUOLOGY. v. 41, p. 65-73, 2018.

GERMER, S. **DEVELOPMENT OF NEAR-SURFACE PERCHED WATER TABLES DURING NATURAL AND ARTIFICIAL STEMFLOW GENERATION BY BABASSU PALMS.** JOURNAL OF HYDROLOGY. v.507, p.262-272, 2013.

GHOTASLOU, R. *et al.* **MECHANISMS OF BACTEROIDES FRAGILIS RESISTANCE TO METRONIDAZOLE.** INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION. v.64, p.156-163, 2018.

GOOLSBY, T. A.; JAKEMAN, B.; GAYNES, R. P. **CLINICAL RELEVANCE OF METRONIDAZOLE AND PERIPHERAL NEUROPATHY: A SYSTEMATIC REVIEW OF THE LITERATURE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS. v.51, n.3, p.319-325, 2018.

GÜNTER, E.A.; POPEYKO, O.V. **CALCIUM PECTINATE GEL BEADS OBTAINED FROM CALLUS CULTURES PECTINS AS PROMISING SYSTEMS FOR COLON-TARGETED DRUG DELIVERY.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.147, p.490-499, 2016.

HASSAN, H. *et al.* **NOVEL DESIGN FOR ALGINATE/RESISTANT STARCH MICROCAPSULES CONTROLLING NISIN RELEASE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.153, p.1186-1192, 2020.

HOSSEINE, S.M. *et al.* **PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ALGINATE AND ALGINATE-RESISTANT STARCH MICROPARTICLES CONTAINING NISIN.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.103, n.1, p.573-580, 2014.

HUANG, D.; DENG, M.; KUANG, S. **POLYMERIC CARRIERS FOR CONTROLLED DRUG DELIVERY IN OBESITY TREATMENT.** TRENDS IN ENDOCRINOLOGY & METABOLISM. v.30, n.12, p.974-989, 2019.

HUO, W. *et al.* **PREPARATION OF A NOVEL CHITOSAN MICROCAPSULES/STARCH BLEND FILM AND THE STUDY OF ITS DRUG-RELEASE MECHANISM.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v. 87, p. 114–122, 2016.

IMPERIALE, J.C.; ACOSTA, G.B.; SOSNIK, A. **POLYMER-BASED CARRIERS FOR OPHTHALMIC DRUG DELIVERY.** JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE. v.285. p.106-141, 2018.

JIANG, M. *et al.* **PREPARATION OF A STARCH-BASED CARRIER FOR ORAL DELIVERY OF VITAMIN E TO THE SMALL INTESTINE.** Food Hydrocolloids. v.91, p.26-33, 2019.

JONES, D. S. *et al.* **MUCOADHESIVE, SYRINGEABLE DRUG DELIVERY SYSTEMS FOR CONTROLLED APPLICATION OF METRONIDAZOLE TO THE PERIODONTAL POCKET: IN VITRO RELEASE KINETICS, SYRINGEABILITY, MECHANICAL AND MUCOADHESIVE PROPERTIES.** JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE. v.49, n.1, p.71-79, 1997.

KACZMARSKA, K. *et al.* **EFFECTS OF CURING CONDITIONS ON THE STRUCTURE OF SODIUM CARBOXYMETHYL STARCH/MINERAL MATRIX SYSTEM: FT-IR INVESTIGATION.** SPECTROCHIMICA ACTA PART A: MOLECULAR AND BIOMOLECULAR SPECTROSCOPY. v. 201, p.236-241, 2018.

KAROLEWICZ, B. **A REVIEW OF POLYMERS AS MULTIFUNCTIONAL EXCIPIENTS IN DRUG DOSAGE FORM TECHNOLOGY.** SAUDI PHARMACEUTICAL JOURNAL. v. 24, n.5, p. 525-536, 2016.

KAVOUSEI, F. *et al.* **SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF A MAGNETIC POLYMER NANOCOMPOSITE FOR THE RELEASE OF METOPROLOL AND ASPIRIN.** JOURNAL OF MOLECULAR STRUCTURE. v.1183, n.5, p.324-330, 2019.

KHLIBSUWAN, R.; TANSENA, W.; PONGJANYAKUL, T. **MODIFICATION OF ALGINATE BEADS USING GELATINIZED AND UNGELATINIZED ARROWROOT (*Tacca leontopetaloides* L. Kuntze) STARCH FOR DRUG DELIVERY.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.118, p.683-692, 2018.

KITTIPONGPATANA, O.S.; KITTIPONGPATANA, N. **PREPARATION AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF MODIFIED JACKFRUIT STARCHES.** LWT - FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY. v.44, n.8, p.1766-1773, 2011.

KITTIPONGPATANA, O.S.; KITTIPONGPATANA, N. **PHYSICOCHEMICAL, IN VITRO DIGESTIBILITY AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL RICE STARCH CROSS-LINKED WITH EPICHLOROHYDRIN.** FOOD CHEMISTRY. v.141, n.2, p.1438-1444, 2013.

KUMAR, M.; BHATIA, R.; RAWAL, R.K. **APPLICATIONS OF VARIOUS ANALYTICAL TECHNIQUES IN QUALITY CONTROL OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS.** JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS. v. 157, p. 122-136, 2018.

KURMA VARMA, A. *et al.* **HOMOGENEOUS CARBOXYMETHYLATED ORANGE PULP CELLULOSE: CHARACTERIZATION AND EVALUATION IN TERMS OF DRUG DELIVERY.** International Journal of Biological Macromolecules. v.93, p.1141-1146, 2016.

LAROSA, C. *et al.* **CHARACTERISATION OF BARE AND TANNASE-LOADED CALCIUM ALGINATE BEADS BY MICROSCOPIC, THERMOGRAVIMETRIC, FTIR AND XRD ANALYSES.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.115, p.900-906, 2018.

LEAL, A. *et al.* **IN VITRO BIOACTIVITY AND CYTOTOXICITY OF FILMS BASED ON MESOCARP OF *Orbignya* sp. AND CARBOXYMETHYLCELLULOSE AS A TANNIC ACID RELEASE MATRIX.** Carbohydrate Polymers. v.201, p. 113-121, 2018.

LEFNAOUI, S.; MOULAI-MOSTEFA, N. **SYNTHESIS AND EVALUATION OF THE STRUCTURAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL PREGELATINIZED STARCH AS A PHARMACEUTICAL EXCIPIENT.** SAUDI PHARMACEUTICAL JOURNAL. v.23, n.6, p.698-711, 2015.

LEICK, S.; HENNING, S.; DEGEN, P. **DEFORMATION OF LIQUID-FILLED CALCIUM ALGINATE CAPSULES IN A SPINNING DROP APPARATUS.** PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS. v.12, n.12, p.2950-2958, 2010.

LEMIEUX, M.; GOSSELIN, P.; MATEESCU, M.A. **CARBOXYMETHYL STARCH MUCOADHESIVE MICROSPHERES AS GASTRORETENTIVE DOSAGE FORM.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.496, n.2, p.497-508, 2015.

LEMOES, P.V.F. **STARCH CHEMICAL MODIFICATIONS APPLIED TO DRUG DELIVERY SYSTEMS: FROM FUNDAMENTALS TO FDA-APPROVED RAW MATERIALS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.184, p.218-234, 2021.

LEONIDA, M.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M. A.. **SELF-STABILIZED CHITOSAN AND ITS COMPLEXES WITH CARBOXYMETHYL STARCH AS EXCIPIENTS IN DRUG DELIVERY.** Bioactive Materials. v. 3, n. 3, p. 334–340, 2018.

LI, S. *et al.* **DEVELOPMENT OF POLYCAPROLACTONE-BASED METRONIDAZOLE MATRICES FOR INTRAVAGINAL EXTENDED DRUG DELIVERY USING A MECHANOCHEMICALLY PREPARED THERAPEUTIC DEEP EUTECTIC SYSTEM.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.593, p. 120071, 2021.

LI, Y. H. *et al.* **A PH-SENSITIVE CURCUMIN LOADED MICROEMULSION-FILLED ALGINATE AND POROUS STARCH COMPOSITE GELS: CHARACTERIZATION, IN VITRO RELEASE KINETICS AND BIOLOGICAL ACTIVITY.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.182, p.1863-1873, 2021.

LI, X.M. *et al.* **FABRICATION OF CHITOSAN HYDROCHLORIDE AND CARBOXYMETHYL STARCH COMPLEX NANOGELS AS POTENTIAL DELIVERY VEHICLES FOR CURCUMIN.** FOOD CHEMISTRY, v.293, p.197-203, 2019.

LIU, J. *et al.* **SYNTHESIS, CHARACTERISATION AND IN VITRO DIGESTIBILITY OF CARBOXYMETHYL POTATO STARCH RAPIDLY PREPARED WITH MICROWAVE-ASSISTANCE.** FOOD CHEMISTRY. v.133, n.4, p.1196-1205, 2012.

LOPES, C.M.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P. **FORMAS FARMACÊUTICAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA: POLÍMEROS HIDRIFÍLICOS.** REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. v.41, n.2, p.143-154, 2005.

LOPES, I. A. *et al.* **ELABORATION AND CHARACTERIZATION OF BIOPOLYMER FILMS WITH ALGINATE AND BABASSU COCONUT MESOCARP.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.234, p.115747, 2020.

LOZANO-VAZQUEZ, G. *et al.* **EFFECT OF THE WEIGHT RATIO OF ALGINATE-MODIFIED TAPIOCA STARCH ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND RELEASE KINETICS OF CHLOROGENIC ACID CONTAINING BEADS.** Food Hydrocolloids. v.48, p.301-311, 2015.

MAHDAVINIA, G.R. *et al.* **MAGNETIC- AND PH-RESPONSIVE K-CARRAGEENAN/CHITOSAN COMPLEXES FOR CONTROLLED RELEASE OF METHOTREXATE ANTICANCER DRUG.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.97, p.209-217, 2017.

MANIGLIA, B.C.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R. **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF STARCH FROM BABASSU MESOCARP.** FOOD HYDROCOLLOIDS. v.55, p.47-55, 2016.

MANIGLIA, B.C. *et al.* **BIOACTIVE FILMS BASED ON BABASSU MESOCARP FLOUR AND STARCH.** FOOD HYDROCOLLOIDS. v.70, p.383-391, 2017.

MASINA, N. *et al.* **A REVIEW OF THE CHEMICAL MODIFICATION TECHNIQUES OF STARCH.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.157, p.1226-1236, 2017.

MASSOUMI, B.; MOZAFFARI, Z.; JAYMAND, M. **A STARCH-BASED STIMULI-RESPONSIVE MAGNETITE NANOHYDROGEL AS DE NOVO DRUG DELIVERY SYSTEM.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v. 117, p.418-426, 2018.

MENDES, LB.P.; MONTEIRO, L.P.C.; PONTUAL, L.V. **AValiação DA DEGRADAÇÃO FOTOCATALÍTICA DO METRONIDAZOL EM SOLUÇÃO AQUOSA UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRIA.** BRAZILIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT, v.6, n.9, p.56821-56834, 2020.

MENEGUIN, A.B. *et al.* **SPRAY-DRIED BACTERIAL CELLULOSE NANOFIBERS: A NEW GENERATION OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENT INTENDED FOR INTESTINAL DRUG DELIVERY.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.249, p.116838, 2020.

MIHAELA FRICIU, M. *et al.* **CARBOXYMETHYL STARCH AND LECITHIN COMPLEX AS MATRIX FOR TARGETED DRUG DELIVERY: I. MONOLITHIC MESALAMINE FORMS FOR COLON DELIVERY.** EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS. v.85, n.3 parte A, p. 521-530, 2013.

MÜLLER, J.M.; SANTOS, R.L.; BRIGIDO, R.V. **PRODUÇÃO DE ALGINATO POR MICROORGANISMOS.** POLÍMEROS. v.21, n.4, p.305-310, 2011.

NASCIMENTO, J.M.; OLIVEIRA, J.D.; LEITE, S.F. **CHEMICAL CHARACTERIZATION OF BIOMASS FLOUR OF THE BABASSU COCONUT MESOCARP (*Orbignya speciosa*) DURING BIOSORPTION PROCESS OF COPPER IONS.** ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY & INNOVATION. v.16, n.1, 2019.

NAYAK, A. K. *et al.* **SOLUBLE STARCH-BLENDED Ca^{2+} - Zn^{2+} -ALGINATE COMPOSITES-BASED MICROPARTICLES OF ACECLOFENAC: FORMULATION DEVELOPMENT AND *IN VITRO* CHARACTERIZATION.** FUTURE JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. v. 4, n.1, p. 63-70, 2018.

NEJATI, L. *et al.* **INVESTIGATION OF USING PECTIN AND CHITOSAN AS NATURAL EXCIPIENTS IN PELLET FORMULATION.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v. 120, p. 1208-1215, 2018.

NGO, V.D. *et al.* **AN INVESTIGATION OF EFFECTS OF MODIFICATION PROCESSES ON PHYSICAL PROPERTIES AND MECHANISM OF DRUG RELEASE FOR SUSTAINING DRUG RELEASE FROM MODIFIED RICE.** MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING: C. v.67, p.1-7, 2016

NICOLETTI, C.D.; FRASSON, A.P.Z. **FORMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA QUALIDADE DE COMPRIMIDOS RETARD DE NIFEDIPINA 20MG DE REFERÊNCIA E SIMILAR.** REVISTA CONTEXTO & SAÚDE. v.5, n.10, p.65-74, 2006.

NIU, B. *et al.* **IN VITRO AND IN VIVO RELEASE OF DICLOFENAC SODIUM-LOADED SODIUM ALGINATE/CARBOXYMETHYL CHITOSAN-ZNO HYDROGEL BEADS.** v.141, p.191-198, 2019.

OKUR, N.Ü. *et al.* **NA ALTERNATIVE APPROACH TO WOUND HEALING FIELD; NEW COMPOSITE FILMS FROM NATURAL POLYMERS FOR MUPIROCIN DERMAL DELIVERY.** SAUDI PHARMACEUTICAL JOURNAL. v. 27, n.5, p. 738-752, 2019.

PACHECO, L.R.E. **OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA MATRIZ POLIMÉRICA A BASE DE ALGINATO COM DIFERENTES AGENTES RETICULANTES.** PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, 2016.

PATIL, A.V.; MAHAJAN, H.S. **MODIFIED PEA STARCH BASED OCULAR FILMS OF AZELASTINE HYDROCHLORIDE: DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION.** CARBOHYDRATE POLYMER TECHNOLOGIES AND APPLICATIONS. v.2, p. 100078, 2021.

PATHAK, M. *et al.* **SUSTAINED SIMULTANEOUS DELIVERY OF METRONIDAZOLE AND DOXYCYCLINE FROM POLYCAPROLACTONE MATRICES DESIGNED FOR INTRAVAGINAL TREATMENT OF PELVIC INFLAMMATORY DISEASE.** JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. v.107, n.3, p.863-869, 2018.

PATRA, P. *et al.* **BIOPOLYMERIC PH-RESPONSIVE FLUORESCENT GEL FOR IN-VITRO AND IN-VIVO COLON SPECIFIC DELIVERY OF METRONIDAZOLE AND CIPROFLOXACIN.** EUROPEAN POLYMER JOURNAL. v.114, p.255-264, 2019.

PAULINO, A.T. *et al.* **NATURAL POLYMER-BASED MAGNETIC HYDROGELS: POTENTIAL VECTORS FOR REMOTE- CONTROLLED DRUG RELEASE.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.90, n.3, p.1216-1225, 2012.

PEREIRA, A.G.B. *et al.* **STARCH-BASED MICROSPHERES FOR SUSTAINED-RELEASE OF CURCUMIN: PREPARATION AND CYTOTOXIC EFFECT ON TUMOR CELLS.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.98, n.1, p.711-720, 2013.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. **FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS ORAIS DE LIBERAÇÃO PROLONGADA: SISTEMAS MONOLÍTICOS E MULTIPARTICULADOS.** REVISTA BRASILEIRA DE CIENCIAS FARMACEUTICAS. v. 43, N. 4, P. 491–502, 2007.

POORESMAEIL, M.; NAMAZI, H. **DEVELOPMENTS ON CARBOXYMETHYL STARCH-BASED SMART SYSTEMS AS PROMISING DRUG CARRIERS: A REVIEW.** v.258, p.117654, 2021.

PREISIG, D. *et al.* **COLONIC DELIVERY OF METRONIDAZOLE-LOADED CAPSULES FOR LOCAL TREATMENT OF BACTERIAL INFECTIONS: A CLINICAL PHARMACOSCINTIGRAPHY STUDY.** EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS. v.165, p.22-30, 2021.

PUNCHA-ARNON, S. *et al.* **THE EFFECT OF HYDROLYSIS OF CASSAVA STARCH ON THE CHARACTERISTICS OF MICROSPHERES PREPARED BY AN EMULSIFICATION-CROSSLINKING METHOD.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.161, p.939-946, 2020.

QUADRADO, R.F.N.; FARJADO, A.R. **MICROPARTICLES BASED ON CARBOXYMETHYL STARCH/CHITOSAN POLYELECTROLYTE COMPLEX AS VEHICLES FOR DRUG DELIVERY SYSTEMS.** ARABIAN JOURNAL OF CHEMISTRY. v.13, n.1, p.2183-2194, 2020.

QUEIROZ, V.M. *et al.* **CORN STARCH FILMS AS A LONG-TERM DRUG DELIVERY SYSTEM FOR CHLORHEXIDINE GLUCONATE.** MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING C. v.112, p.110852, 2020.

RASSU, G. *et al.* **COMPOSITE CHITOSAN/ALGINATE HYDROGEL FOR CONTROLLED RELEASE OF DEFEROXAMINE: A SYSTEM TO POTENTIALLY TREAT IRON DYSREGULATION DISEASES.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.136, p.1338-1347, 2016.

RATHORE, H.S. *et al.* **FABRICATION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN FILME IMPREGNATED CIPROFLOXACIN DRUG: A COMPARATIVE STUDY.** BIOCATALYSIS AND AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY. v. 18, p.1-6, 2019.

RAUT, S. Y. *et al.* **NANOCOMPOSITE CLAY-POLYMER MICROBEADS FOR ORAL CONTROLLED DRUG DELIVERY: DEVELOPMENT AND, IN VITRO AND IN VIVO EVALUATIONS.** JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY. v. 51, n. March, p. 234–243, 2019.

RIUL, A. **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA CARBOXIMETIL AMILOPECTINA COM VÁRIOS GRAUS DE SUBSTITUIÇÃO.** PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO-USP, 2013.

RODRIGUES, J. C.; CASELI, L. **LIPIDS MEDIATING THE INTERACTION OF METRONIDAZOLE WITH CELL MEMBRANE MODELS AT THE AIR-WATER INTERFACE.** COLLOIDS AND SURFACES B: BIOINTERFACES. v.171, p.377-382, 2018.

RODRIGUES, S. *et al.* **MORPHOLOGICAL, STRUCTURAL, THERMAL PROPERTIES OF A NATIVE STARCH OBTAINED FROM BABASSU MESOCARP FOR FOOD PACKAGING APPLICATION.** JOURNAL OF MATERIALS RESEARCH AND TECHNOLOGY, v.9, n.6, p.15670-15678, 2020.

ROSSI-BERGMANN, B. **A NANOTECNOLOGIA: DA SAÚDE PARA ALÉM DO DETERMINISMO TECNOLÓGICO.** CIÊNCIA E CULTURA. v.60, n.2, p.54-57, 2008.

ROY, A.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. **DYNAMICS OF CONTROLLED RELEASE OF CHLORPYRIFOS FROM SWELLING AND ERODING BIOPOLYMERIC MICROSPHERES OF CALCIUM ALGINATE AND STARCH.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.76, n.2, 2009.

SABALE, V. *et al.* **CHARACTERIZATION OF NATURAL POLYMERS FROM JACKFRUIT PULP, CALENDULA FLOWERS AND TARA SEEDS AS MUCOADHESIVE AND CONTROLLED RELEASE COMPONENTS IN BUCCAL TABLETS.** INTERNACIONAL JOURNAL OB BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v. 95, p. 321-330, 2017.

SABOKTAKIN, M.R. *et al.* **SYNTHESIS AND IN VITRO EVALUATION OF CARBOXYMETHYL STARCH-CHITOSAN NANOPARTICLES AS DRUG DELIVERY SYSTEM TO THE COLON.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.48, n.3, p.381-385, 2011.

SAHINER, N.; SUNER, S.S.; AYYALA, R.S. **MESOPOROUS, DEGRADABLE HYALURONIC ACID MICROPARTICLES FOR SUSTAINABLE DRUG DELIVERY APPLICATION.** COLLOIDS AND SURFACES B: BIOINTERFACES. v.177, n.284-293, 2019.

SALEH, T.A.; PARTHASARATHY, P.; IRFAN, M. **ADVANCED FUNCTIONAL POLYMER NANOCOMPOSITES AND THEIR USE IN WATER ULTRA-PURIFICATION.** TRENDS IN ENVIRONMENTAL ANALYTICAL CHEMISTRY. v. 24, 2019.

SANCHEZ-BALLESTER *et al.* **FLEXIBLE HETEROIONIC CALCIUM-MAGNESIUM ALGINATE BEADS FOR CONTROLLED DRUG RELEASE.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v. 207, p. 224-229, 2019.

SANTANA, S.A.A. *et al.* **IMMOBILIZATION OF ETHYLENESULFIDE ON BABASSU COCONUT EPICARP AND MESOCARP FOR DIVALENT CATION SORPTION.** JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS. v. 174, n.1-3, p. 714-719, 2010.

SARAIVA RODRIGUES, S.C. *et al.* **MORPHOLOGICAL, STRUCTURAL, THERMAL PROPERTIES OF A NATIVE STARCH OBTAINED FROM BABASSU MESOCARP FOR FOOD PACKAGING APPLICATION.** JOURNAL OF MATERIALS RESEARCH AND TECHNOLOGY. v.9, n.6, p.15670-15678, 2020.

SHEN, W. HSIEH, Y. **BIOCOMPATIBLE SODIUM ALGINATE FIBERS BY AQUEOUS PROCESSING AND PHYSICAL CROSSLINKING.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.102, n.1, p.893-900, 2014.

SIBAJA, B. *et al.* **PREPARATION OF ALGINATE-CHITOSAN FIBERS WITH POTENTIAL BIOMEDICAL APPLICATIONS.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.134, p.598-608, 2015.

SILVA, K.G.S. *et al.* **PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA FARINHA DO MESOCARPO DO COCO BABAÇU: UMA ALTERNATIVA NUTRICIONAL CONTRA A COVID-19.** RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT. v.10, n.2, 2021.

SILVEIRA, T.M.G.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R. **IS ISOLATING STARCH FROM THE RESIDUE OF ANNATTO PIGMENT EXTRACTION FEASIBLE?** FOOD HYDROCOLLOIDS. v.77, p.117-125, 2018.

SINGH, V. K. *et al.* **PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NOVEL CARBOPOL BASED BIGELS FOR TOPICAL DELIVERY OF METRONIDAZOLE FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL VAGINOSIS.** MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING: C. v.44, p.151-158, 2014.

SINHA, P.; UBAIDULLA, U.; NAYAK, A. K. **OKRA (*Hibiscus esculentus*) GUM-ALGINATE BLEND MUCOADHESIVE BEADS FOR CONTROLLED GLIBENCLAMIDE RELEASE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.72, p. 069-1075, 2015.

SINGH, C.K.S. *et al.* **SPRAY-DRIED ALGINATE-COATED PICKERING EMULSION STABILIZED BY CHITOSAN FOR IMPROVED OXIDATIVE STABILITY AND IN VITRO RELEASE PROFILE.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.251, p. 117110, 2021.

SILVA, M.F. **DETERMINAÇÃO DA BIOEQUIVALÊNCIA DO METRONIDAZIL A PARTIR DE COMPRIMIDOS REVESTIDOS.** PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÁRMACO E MEDICAMENTOS, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO-USP, 2009.

SOLER, M. P.; VITALI, A. A.; MUTO, E. F. **TECNOLOGIA DE QUEBRA DO COCO BABAÇU (*Orbignya Speciosa*).** CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. v.27, n.4, p.717-722, 2007.

SONG, B. **LOTUS LEAF-INSPIRED DESIGN OF CALCIUM ALGINATE PARTICLES WITH SUPERHIGH DRUG ENCAPSULATION EFFICIENCY AND PH RESPONSIVE RELEASE.** COLLOIDS AND SURFACES B: BIOINTERFACES. v.172, p.464-470, 2018.

SOUZA, M.H.S.L. *et al.* **ETHNOPHARMACOLOGICAL USE OF BABASSU (*Orbignya Phalerata* Mart) IN COMMUNITIES OF BABASSU NUT BREAKERS IN MARANHÃO, BRAZIL.** JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY. v.133, n.1, p.1-5, 2011.

SRIAMORNSAK, P.; THIRAWONG, N.; KORKERD, K. **SWELLING, EROSION AND RELEASE BEHAVIOR OF ALGINATE-BASED MATRIX TABLETS.** EUROPEAN

JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS. v.66, n.3, p.435-450, 2007.

STANCIL, S. L. *et al.* **DEVELOPMENT OF A UPLC-MS/MS METHOD FOR QUANTITATION OF METRONIDAZOLE AND 2-HYDROXY METRONIDAZOLE IN HUMAN PLASMA AND ITS APPLICATION TO A PHARMACOKINETIC STUDY.** JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY B. v.1092, p.272-278, 2018.

SUR, S. *et al.* **RECENT DEVELOPMENTS IN FUNCTIONALIZED POLYMER NANOPARTICLES FOR EFFICIENT DRUG DELIVERY SYSTEM.** NANO-STRUCTURES & NANO-OBJECTS. v. 20, p. 100397, 2019.

SURYA, R. *et al.* **SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF A PH RESPONSIVE AND MUCOADHESIVE DRUG DELIVERY SYSTEM FOR THE CONTROLLED RELEASE APPLICATION OF ANTI-CANCEROUS DRUG.** ARABIAN JOURNAL OF CHEMISTRY. v.13, n.5, p.5262–5276, 2020.

TATONGJAI, J.; LUMDUBWONG, N. **PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND TEXTILE UTILIZATION OF LOW- AND MODERATE-SUBSTITUTED CARBOXYMETHYL RICE STARCHES WITH VARIOUS AMYLOSE CONTENT.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.81, n.2, p.377-384, 2010.

THOMAS, D.; MATHEW, N.; NATH, M. S. **STARCH MODIFIED ALGINATE NANOPARTICLES FOR DRUG DELIVERY APPLICATION.** International Journal of Biological Macromolecules. v.173, p.277-284, 2021.

TONG, X. *et al.* **RECENT ADVANCES IN NATURAL POLYMER-BASED DRUG DELIVERY SYSTEMS.** REACTIVE AND FUNCTIONAL POLYMERS. v.148, p.104501, 2020.

TORRES, O.J.M. *et al.* **ATIVIDADE DE *Orbignya phalerata* E *Euterpe edules* NA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA ÚLCERA PÉPTICA EM RATOS.** ARQUIVOS BRASILEIROS DE CIRURGIA DIGESTIVA. v.31, n.3, p.1-4, 2018.

VARAPRASAD, K. *et al.* **ALGINATE-BASED COMPOSITE MATERIALS FOR WOUND DRESSING APPLICATION:A MINI REVIEW.** Carbohydrate Polymers. v.236, p.116025, 2020.

VIEIRA, A.P. *et al.* **KINETICS AND THERMODYNAMICS OF TEXTILE DYE ADSORPTION FROM AQUEOUS SOLUTIONS USING BABASSU COCONUT MESOCARP.** JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS. v.166, n.2-3, p.1272-1278, 2009.

VIEIRA, A.P. *et al.* **REMOVAL OF TEXTILE DYES FROM AQUEOUS SOLUTION BY BABASSU COCONUT EPICARP (*Orbignya Speciosa*).** CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL. v. 173, n.2, p. 334-340, 2011.

WANG, B. *et al.* **EFFECTS OF DIFFERENT MOISTURE CONTENTS ON THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF CORN STARCH DURING EXTRUSION.** FOOD CHEMISTRY. v.368, p. 130804, 2021.

WANG, L. *et al.* **SYNTHESIS AND PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL KUDZU ROOT STARCH.** CARBOHYDRATE POLYMERS, v.80, n.1, p.174-179, 2010.

WANG, Q. *et al.* **ALGINATE/STARCH BLEND FIBERS AND THEIR PROPERTIES FOR DRUG CONTROLLED RELEASE.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.82, n.3, p.842-847, 2010.

WANG, Y. *et al.* **PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF CARBOXYMETHYL STARCH FROM CADMIUM-CONTAMINATED RICE.** v.308, p. 125674, 2020.

WARREN, F.J. *et al.* **BINDING INTERACTIONS OF α -AMYLASE WITH STARCH GRANULES: THE INFLUENCE OF SUPRAMOLECULAR STRUCTURE AND SURFACE AREA.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.86, n.2, p.1038-1047, 2011.

WÖHL-BRUHN, S. *et al.* **HYDROXYETHYL STARCH-BASED POLYMERS FOR THE CONTROLLED RELEASE OF BIOMACROMOLECULES FROM HYDROGEL MICROSPHERES.** EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS. v.81, n.3, p.573-581, 2012.

XUE, C.H. *et al.* **FABRICATION OF SUPERHYDROPHOBIC COTTON FABRICS BY GRAFTING OF POSS-BASED POLYMERS ON FIBERS.** APPLIED SURFACE SCIENCE. v. 465, p.241-248, 2019.

YANLI, W.; WENYUAN, G.; XIA, L. **CARBOXYMETHYL CHINESE YAM STARCH: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INFLUENCE OF REACTION PARAMETERS.** CARBOHYDRATE RESEARCH, v.344, n.13, p.1764-1769, 2009.

rpYAZDANI, R.M. *et al.* **MRI FINDINGS OF METRONIDAZOLE NEUROTOXICITY IN A PEDIATRIC PATIENT WITH CHRONIC DIARRHEA.** RADIOLOGY CASE REPORTS. v.14, n.1, p.75-78, 2018.

YULIANA, M. *et al.* **DEFATTED CASHEW NUT SHELL STARCH AS RENEWABLE POLYMERIC MATERIAL: ISOLATION AND CHARACTERIZATION.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.84, n.4, p. 2576-2581. 2012.

ZAFEIRI, I. *et al.* **MECHANICAL PROPERTIES OF STARCH-FILLED ALGINATE GEL PARTICLES.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.255, p.117373, 2021.

ZHANG, A. *et al.* **RECENT ADVANCES IN STIMULI-RESPONSIVE POLYMER SYSTEMS FOR REMOTELY CONTROLLED DRUG RELEASE.** PROGRESS IN POLYMER SCIENCE. v. 99, p. 101164, 2019.

ZHENG, Y. *et al.* **RECENT ADVANCES IN PLANT POLYSACCHARIDE-MEDIATED NANO DRUG DELIVERY SYSTEMS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.165, p.2668-2683, 2020.

ZABOT, G.L. *et al.* **PHYSICOCHEMICAL, MORPHOLOGICAL, THERMAL AND PASTING PROPERTIES OF A NOVEL NATIVE STARCH OBTAINED FROM ANNATTO SEEDS.** FOOD HYDROCOLLOIDS, v.89, p.321-329, 2019

ZULEGER, S.; FASSIHI, R.; LIPPOLD, B.C. **POLYMER PARTICLE EROSION CONTROLLING DRUG RELEASE. II. SWELLING INVESTIGATIONS TO CLARIFY THE RELEASE MECHANISM.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v.247, n.1-2, p.23-37, 2002.

ZDANOWICZ, M.; SPYCHAJ, T.; LENDZION-BIELUŃ, Z. **CROSSLINKED CARBOXYMETHYL STARCH: ONE STEP SYNTHESIS AND SORPTION CHARACTERISTICS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.71, p.87-93, 2014.