



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V – MINISTRO ALCIDES CARNEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS APLICADAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MARINI NASCIMENTO DE LIMA

**CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PCL LIOFILIZADAS
CONTENDO DIETILCARBAMAZINA**

**JOÃO PESSOA
2019**

MARINI NASCIMENTO DE LIMA

**CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PCL LIOFILIZADAS
CONTENDO DIETILCARBAMAZINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada
ao Programa de Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à obtenção do
título de bacharel em Ciências Biológicas.
Área de concentração: Nanobiotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

JOÃO PESSOA

2019

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

L732c Lima, Marini Nascimento de.
Caracterização de nanopartículas de PCL liofilizadas contendo dietilcarbrazina. [manuscrito] / Marini Nascimento de Lima. - 2019.
38 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Elquio Eleamen de Oliveira ,
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."
1. Estabilidade. 2. Crioprotetor. 3. Tamanho de partícula. I.
Título
21. ed. CDD 572.8

MARINI NASCIMENTO DE LIMA

CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PCL LIOFILIZADAS CONTENDO
DIETILCARBMAZINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada
ao Programa de Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à obtenção do
título de bacharel em Ciências Biológicas.

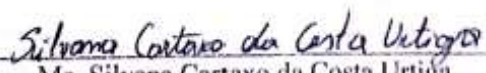
Área de concentração: Nanobiotecnologia.

Aprovada em: 10/12/2018.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Eládio Elearnen Oliveira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Me. Camila de Oliveira Melo
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)


Me. Silvana Cartaxo da Costa Urtiga
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

*Dedico à minha família, principalmente a minha mãe,
que sempre deu o seu melhor por mim.
Acreditando e ajudando na realização do meu sonho.
Eu amo vocês*

“A única maneira de fazer um bom trabalho é amando o que você faz. Se você ainda não encontrou, continue procurando. Não se desespere. Assim como no amor, você saberá quando tiver encontrado.”

Steve Jobs

LISTA DE ABREVIATURAS

DEC	Dietilcarbamazina
DRX	Difração de Raios-X
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
NANO-DEC	Nanopartículas-Dietilcarbamazina
PCL	Poli- ϵ -caprolactona
PDI	Índice de polidispersão
PVA	Álcool polivinílico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aspecto Macroscópico das Formulações Liofilizadas.....	16
Figura 2: Liofilizado estável com sua estrutura altamente porosa.....	18
Figura 3: Análise de FTIR comparando a amostra controle com as amostras de Sorbitol 2,5%, 5% e 10%.....	22
Figura 4: Análise de FTIR comparando a amostra controle com as amostras de Manose 2,5%, 5% e 10%.....	23
Figura 5: Análise de FTIR comparando a amostra controle com as amostras de Trealose 2,5%, 5% e 10%.....	24
Figura 6: Difrátogramas comparando a amostra controle com as de Manose 2,5%, 5% e 10%.....	25
Figura 7: Difrátogramas comparando a amostra controle com as de Sorbitol 2,5%, 5% e 10%.....	25
Figura 8: Difrátogramas comparando a amostra controle com as de Trealose 2,5%, 5% e 10%.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média do potencial zeta, tamanho de partículas, índice de polidispersão e tempo de ressuspensão das formulações de nanopartículas liofilizadas.....	17
Tabela 2: parâmetros utilizados para analisar o aspecto macroscópico.....	19
Tabela 3: Picos observados no FTIR.....	20

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1	MATERIAIS.....	13
2.2	MÉTODOS.....	13
2.2.1	<i>Liofilização das nanopartículas de PCL contendo DEC.....</i>	13
2.2.2	<i>Caracterizações físico-químicas</i>	14
2.2.2.1	Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta	14
2.2.2.2	Aspecto Microscópico	14
2.2.2.3	Difração de raio-x (DRX).....	15
2.2.2.4	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).....	15
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
3.1	Obtenções das nanopartículas contendo Dietilcarbamazina.....	16
3.2	Liofilizações das nanopartículas	17
3.3	Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta.....	22
3.4	<i>Aspecto Macroscópico.....</i>	24
3.5	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	25
3.6	Difração de raio-x (DRX).....	30
4	CONCLUSÃO.....	33

CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PCL LIOFILIZADAS CONTENDO DIETILCARBMAZINA

Marini Nascimento de Lima *

RESUMO

A Dietilcarbamazina (DEC) é um fármaco utilizado mundialmente para o combate da filariose linfática. Vários estudos vêm sendo realizados nos últimos anos, relatando outras atividades farmacológicas, com destaque a atividade anti-inflamatória. As nanopartículas são sistemas de liberações de fármacos interessantes, uma vez que possibilitam uma administração segura, com baixos efeitos colaterais e diminuindo a toxicidade dos fármacos. A liofilização é um processo amplamente utilizado para melhorar a estabilidade desses sistemas e os crioprotetores vem sendo usados para diminuir a agregação desses sistemas durante o processo de congelamento. Neste estudo, a liofilização foi utilizada para potencializar a estabilidade das nanopartículas contendo a Dietilcarbamazina. A liofilização foi realizada utilizando-se três tipos de crioprotetores diferentes: manose, sorbitol e trealose, em porcentagens diferentes (2,5%, 5% e 10%). A amostra liofilizada com 5% de trealose apresentou uma estabilidade próxima do controle com: potencial zeta de -1,88 mV; tamanho médio das nanopartículas de 286,6 nm; e PDI de 0,157; menor tempo de reconstituição em meio aquoso; com uma agitação manual. As amostras que colapsavam com frequência eram as que continham uma maior concentração de crioprotetor, exceto a trealose 10%. Sobre a análise de FTIR, a trealose 5% apresentou uma proximidade do controle onde não foi visto surgimento de novos picos. Em relação ao DRX, a amostra trealose 5% apresentou alguns picos significativos de cristalinidade entre 10°-25°, isso caracterizando sua ótima estabilidade como crioprotetor.

Palavras-Chaves: Estabilidade. Crioprotetor. Tamanho de partícula.

* Aluna de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus V.
Email: Marinedlima@hotmail.com

ABSTRACT

Diethylcarbamazine (DEC), a worldwide drug used to combat lymphatic filariasis. Several studies have been conducted reporting other pharmacological activities, with emphasis on anti-inflammatory activity of DEC. Nanoparticles are interesting drug release systems as they allow safe administration with low side effects and decrease drug toxicity. Lyophilization is a widely used process to improve the stability of these systems and cryoprotectants have been used to decrease the aggregation of these systems during this process. In this study, lyophilization was used to increase the stability of PCL nanoparticles containing DEC. Lyophilization was performed using three different types of cryoprotectants: mannose, sorbitol and trehalose, in different percentages (2.5%, 5% and 10%). The lyophilized sample with 5% of trehalose was the one that passed in all stability analyzes as the closest to the control with: zeta potential of -1.88 mV; mean nanoparticle size of 286.6 nm; and PDI of 0.157; shorter reconstitution time in aqueous medium and under manual agitation. The samples that frequently collapsed were those containing a higher concentration of cryoprotectant, except trehalose 10%. On the FTIR analysis, trehalose 5% was closer to the control where new peaks were not seen. Regarding XRD, the 5% trehalose sample showed some significant peaks of crystallinity between 10°-25°, which characterizes its excellent cryoprotective stability.

Keywords: Stability. Cryoprotectant. Particle size.

1 INTRODUÇÃO

A Dietilcarbamazina (DEC) é um fármaco utilizado mundialmente para o combate da filariose linfática, causada por vermes nematoides (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* e *Brugia timori*), sendo transmitida aos seres humanos por picadas de mosquitos, em seu estágio larval. Vários estudos vêm sendo realizados nos últimos anos, relatando outras atividades farmacológicas da DEC, incluindo atividade anti-inflamatória. Uma das suas vantagens em relação aos outros fármacos é a sua baixa toxicidade e a sua possibilidade de administração oral (RIBEIRO, 2012; PEIXOTO & SILVA, 2014). Quando encapsulada com nanopartículas de PCL (poli-ε-caprolactona), a DEC demonstrou um alto potencial anti-inflamatório e antifibrótico comparado à formulação tradicional do DEC, restaurando a morfologia hepática (RODRIGUES *et al.* 2018).

O sistema de liberação de fármacos vem sendo alvo de pesquisas intensas na área farmacêutica nos últimos anos. O desenvolvimento de nanocarreadores vem demonstrando uma relevância significativa para estabelecer alternativas terapêuticas mais eficazes, possibilitando uma administração segura, com baixos efeitos colaterais e diminuindo sua toxicidade. (ARAUJO, 2009; OYAFUSO, 2012; TOROSEAN *et al.*, 2013; MORAIS *et al.* 2016; YOUSHIA *et al.* 2017).

Os sistemas coloidais envolvem o fármaco, formando uma barreira, e ao entrar em contato com os fluidos biológicos acabam liberando o princípio ativo (BALEST, 2013; DALMOLIN *et al.* 2016). Possuem uma capacidade maior de armazenamento e uma melhor estabilidade em fluidos biológicos, melhorando a farmacocinética (ABREU, 2012; BHATTACHARJEE, 2016b; LIMA & ALBUQUERQUE, 2012).

Dentre os carreadores nanoestruturados, as nanopartículas poliméricas estão em maior destaque, possuindo geralmente um diâmetro menor que 1 µm. As nanopartículas podem se apresentarem como nanocápsulas ou nanoesferas que se diferenciam por causa de sua composição e organização estrutural. As nanocápsulas são partículas que possuem um núcleo oleoso/aquoso composto por substâncias ativas, envolvida por uma parede polimérica; e as nanoesferas, o fármaco fica retido ou adsorvido em uma matriz polimérica (SOUTO *et al.* 2011; WU *et al.* 2011; CAZO *et al.* 2012; ASSIS *et al.* 2012).

Nanopartículas poliméricas possibilitam o direcionamento para órgãos e tecidos específicos, e acumulação no seu local de interesse, dessa maneira aumentando o potencial de ação do fármaco e diminuindo os seus efeitos colaterais (FONTE et al. 2016). Diversos polímeros sintéticos ou naturais vêm sendo utilizadas para a formulação desses sistemas, com uma grande frequência nas áreas: farmacêuticas, tecnológicas e biomédicas (ADIBKIA et al. 2011; SILVA, 2013; NARDI et al. 2015). O PCL é um polímero sintético com uma ampla utilização na formação desses sistemas coloidais, já que possui uma ótima biocompatibilidade, biodisponibilidade, alta permeabilidade, resistência à hidrólise química e possui uma degradação lenta na ausência de enzimas, sendo biodegradável, e possuindo propriedades de liberação sustentada (BALEST, 2013; FONTE et al. 2015).

Geralmente as nanopartículas são produzidas em uma suspensão aquosa (FONTE et al. 2016). Entretanto, a maior dificuldade em relação a esses sistemas é a sua instabilidade física em meio aquoso, decorrente da hidrólise polimérica, onde podem ocorrer agregação e fusão das partículas com um longo período de armazenamento ou a agregação do fármaco à nanopartícula, dessa maneira sendo uma barreira para o uso clínico, e ainda estando propensas a crescimento de microrganismos. A ação hidrolítica pode ocasionar a degradação da nanopartícula, dificultando a sua liberação sustentada. (ARAUJO, 2009; FONTE et al. 2012; ALIHOSSEINI et al. 2015; MORAIS et al. 2016;).

A liofilização é um processo de retirada da água por meio da sublimação de gelo, tendo três etapas principais: congelamento, secagem primária e secagem secundária (BAHETI et al. 2010; KASPER & FRIESS, 2011; KODAMA et al. 2014; LUCENA, 2014; FRAFOSO, 2014 FONTE et al. 2016;). Aonde vem sendo considerada uma ótima técnica para melhorar a estabilidade em longo prazo desses sistemas, ajudando a superar os problemas ocasionados pelo armazenamento em meio aquoso, já que no estado seco as reações indesejáveis são diminuídas; e facilitam o manuseio do produto, aumentando seu tempo de armazenamento (KASPER et al. 2013; LUCENA, 2014; MORAIS et al. 2016). Entretanto, a cristalização do gelo pode ocasionar tensões durante o processo, desestabilizando as partículas antes de se tornarem secas (ALIHOSSEINI et al. 2015; FONTE et al. 2016).

Estudos demonstram que as nanopartículas possuem uma estrutura frágil, dessa forma podendo não resistir a liofilização, e dessa maneira sendo essencial o uso de crioprotetores para evitar o colapso (BAHETI et al. 2010; VARSHOSAZ et al. 2012; FONTE et al. 2015).

Os crioprotetores são compostos usados na liofilização para evitar tensões e diminuir as agregações que ocorrem nas partículas durante o estresse do congelamento e a secagem, que podem levar a danos físicos e químicos (MORAIS et al. 2016). Alguns crioprotetores usados para a liofilização são: sacarose, trealose, manitol, sorbitol, manose, álcool polivinílico, glicose, frutose, dextrana, glicerol e hidroxipropil- β -ciclodextrina (ALIHOSSEINI et al. 2015).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi estudar o uso de três crioprotetores (manose, sorbitol e trealose) em diferentes porcentagens no processo de liofilização de nanopartículas de PCL contendo Dietilcarbamazina.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Substâncias e reagentes

- Poli- ϵ -caprolactona (PCL) - **Sigma Alderich (USA)**
- Álcool polivinílico (PVA) Mw – 23 000 Da - **Sigma Alderich (USA)**
- Poloxamer 188 (Pluronic F-68 ®) - **Sigma Alderich (USA)**
- Dietilcarbamazina - **Sigma Alderich (USA)**
- Trealose
- Manose
- Sorbitol
- Diclorometano - (**Sigma Chemical Co., USA**)
- Água destilada

Equipamentos analíticos

- Ultra-turrax - (**IKA T18 basic**)
- Evaporador rotatório - (**R-215- BUCHII**)
- Balança analítica - (**AUW220D- SHIMADZU**)
- Espectrofotômetro - (**modelo SP-2000 UV, Spectrum**)
- Espectrofotômetro de FTIR - (**IRPrestige-21, SHIMADZU -Japão**)
- Difractômetro de raios-X - (**D8- Advance, Bruker**)
- Zetasizer - (**Nano-ZS- Malvern Instruments, UK**)

- Liofilizador – (Alpha 1-2 plus, CHRIST-USA)
- Vórtex - (PHOENIX, AP59)

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Liofilização das nanopartículas de PCL contendo DEC

As formulações foram desenvolvidas baseadas no método de múltipla-emulsão utilizado por GABÍNIO *et al.*, (2017). Esta formulação NANO-DEC está patenteada (BR 10 2017 002700-7 e PCT / BR2018 / 050027).

A liofilização do sistema foi realizada utilizando três tipos de crioprotetores: manose, sorbitol e trealose, com o intuito de alcançar as melhores condições para ter um liofilizado com uma alta estabilidade. Após o preparo da formulação, obteve-se um volume final de 10mL, onde foi fracionado em 10 frascos, cada frasco contendo 1mL da formulação. Adicionou os crioprotetores com porcentagens diferentes: 2,5%, 5% e 10%, e a amostra sem crioprotetor foi usada como controle. As amostras foram congeladas a -60°C e liofilizadas por 24h, apenas utilizando a secagem primária.

2.2.2 Caracterizações físico-químicas

2.2.2.1 Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta

A determinação do potencial zeta, tamanho das partículas, índice de polidispersão foram analisados no ZetaSize, utilizando a técnica de espalhamento de luz dinâmica. As amostras foram ressuspensas em água destilada e analisadas em triplicata com ângulo de dispersão de 173°C à 25°C.

2.2.2.2 Aspecto Macroscópico

O aspecto macroscópico foi analisado após a liofilização em temperatura ambiente $\pm 25^\circ\text{C}$, levando em conta os parâmetros: cor, volume total, aspecto, aparência.

2.2.2.3 Difração de raios-x (DRX)

Os padrões de difração de raios-X, foram determinados com o difratômetro de raios-X (D8 advanced, Bruker), utilizando radiação de CuK α ($\lambda = 0,15418$ nm, tubos de voltagem 40 Kv e corrente de 20 mA). O ângulo de varredura usado para as análises foi ao longo de 2θ , variando de 5°C à 70°C , com velocidade de $2^\circ/\text{min}$.

2.2.2.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

As nanopartículas liofilizadas foram analisadas por espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier – FTIR. A análise foi realizada para verificar a presença de modificações nas bandas do sistema, se quando liofilizado com os crioprotetores, acabam ocasionando alguma modificação na formulação. A faixa utilizada para a análise foi de 4000 a 700 cm^{-1} .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Liofilização das nanopartículas de PCL

O processo de liofilização apresentou diferentes características de acordo com as porcentagens e o crioprotetor utilizado. O liofilizador forneceu uma ótima estabilidade durante o processo de secagem em relação à temperatura e pressão, onde esses parâmetros são de grande importância durante o processo.

Quando ocorre o congelamento das amostras, a água se dissocia dos sais, formando uma rede de poros (MORAIS et al. 2016) e são nesses locais onde os crioprotetores atuam para preservar o sistema, ajudando a formulação a não colapsar quando a água é retirada por sublimação. A presença desses poros é importante em um liofilizado, pois facilita a sua reconstituição na água (FONTE et al. 2012).

Um ótimo produto liofilizado tem que apresentar as mesmas propriedades físicas e químicas que a formulação apresentava antes da liofilização, além disso, umidade aceitável, estabilidade ao longo prazo e uma aparência elegante do material seco e um curto tempo de reconstituição (MORAIS et al. 2016; FONTE et al. 2016; BAHETI et al. 2010). De todas as onze amostras, a trealose 5% foi a que conseguiu atingir todos os parâmetros e não ocorreu colapso durante o processo.

Os açúcares foram escolhidos como os crioprotetores para serem utilizados já que são biocompatíveis e podem ser vitrificados facilmente durante o congelamento. Os açúcares também afetam a temperatura de transição vítrea (T_g e T_g') do sistema, sendo importante no ciclo de liofilização (FONTE et al. 2016; DADPARVAR et al. 2014).

Foi observado que ocorreram colapsos em algumas formulações ao longo da pesquisa, já que foi constatado que alguns fatores podem influenciar no método como: a duração do

congelamento, o tipo e a porcentagem de crioprotetores, a temperatura do congelamento, a pressão do dispositivo do liofilizador e outros. Dessa maneira é necessário que sistemas coloidais liofilizados sejam otimizados para fornecer um produto mais estável (VARSHOSAZ et al. 2012).

Um dos parâmetros que podemos observar que influenciou na liofilização foi à concentração dos crioprotetores (Figura 1). Os crioprotetores possuem mecanismos diferentes de proteção, e alguns exercem a sua atividade em concentrações específicas. O aumento na concentração do açúcar pode ocasionar uma desestabilização das nanopartículas, e dessa maneira ocorrendo o colapso ou até mesmo agregações das partículas (MORAIS et al. 2016; FONTE et al. 2016; CHUNG et al. 2012; VARSHOSAZ et al. 2012). As amostras contendo 10% de manose e sorbitol colapsaram.

Uma das teorias que descrevem como ocorre essa proteção realizada pelo crioprotetor é a da “vitrificação”, onde se baseia que exista uma interação entre os grupos hidroxilas do crioprotetor e das moléculas de água, dessa maneira aumentando a viscosidade da solução e reduzindo a formação de cristais de gelo, com isso limitando o estresse. Outra forma dos crioprotetores agirem é substituindo as moléculas de água durante a secagem, quando formam as redes de poros com o congelamento, onde os crioprotetores formam pontes de hidrogênio com a superfície das nanopartículas, no final da secagem primária, atuando como substituto da água e dessa maneira evitando a agregação do partículas (MORAIS et al. 2016; FONTE et al. 2016; NIKOLAEVA et al. 2017).

Figura 1: Aspecto Macroscópico das Formulações Liofilizadas



FONTE: AUTOR

3.2 Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta.

A análise do tamanho das partículas e o seu índice de polidispersão (PDI) são fatores importantes que influenciam no comportamento biofarmacêutico das partículas que possuem substâncias ativas encapsuladas em várias aplicações terapêuticas. O PDI é um parâmetro que auxilia na avaliação da estabilidade e uniformidade do sistema. Valores considerados ótimos de PDI de acordo com a literatura devem estar entre 0,01 e 0,5. (MELO, 2018; YOUSHA et al. 2017). Mas quando se leva em consideração os sistemas homogêneos, os valores de PDI devem estar entre 0,1 e 0,4, acima disso pode se considerar um sistema polidisperso (BHATTACHARJEE, 2016b).

Como podem ser observadas na tabela 2, as nanopartículas liofilizadas sem o uso de crioprotetores (controle), possuem um tamanho de 281 nm, com um baixo índice de polidispersão de 0,185 e apresentando um potencial zeta com média de -0,64 mV. Quando comparamos as amostras que contém os crioprotetores, nota-se que uma alta taxa de crioprotetores faz com que ocorra um aumento no potencial zeta em todas as amostras liofilizadas contendo 10% dos açúcares.

As nanopartículas contendo Sorbitol 5% apresentaram o melhor parâmetro de potencial e PDI e com um tamanho de partícula sendo considerado próximo ao do controle. Entretanto, quando analisado o seu tempo de reconstituição, foi o mais longo com 60s e sendo necessário o auxílio de agitação vigorosa, sendo um parâmetro importante para a comercialização.

Em relação às nanopartículas com 2,5% de crioprotetores, foram os que apresentaram os maiores tamanhos de partículas e PDI, exceto a que continha Sorbitol. A manose em todas as porcentagens demonstrou um potencial zeta bastante elevado. Seu índice de polidispersão também foi alto nas amostras com 2,5% e 10% do crioprotetor, e dessa maneira sendo consideradas polidispersas.

A trealose 10% apresentou um tamanho menor que a do controle com baixo PDI. Entretanto, o seu potencial zeta foi bastante elevado. A amostra de trealose 5% foi a que passou em todas as análises de estabilidade como a mais próxima do controle em todos os parâmetros analisados.

Estudos demonstram que a trealose possui uma facilidade maior de reconstituição comparado à outros açúcares quando utilizados como crioprotetores (MORAIS et al. 2016). Alguns fatores que influenciam a ressuspensão de uma amostra liofilizada, incluem: a presença de colapso, a presença de adicionais que sejam hidrofóbicos, a homogeneidade e a formação de canais entre os poros (KASPER et al. 2011).

Tabela 1: Média e desvio padrão do potencial zeta, tamanho de partículas, índice de polidispersão e tempo de ressuspensão das formulações de nanopartículas liofilizadas.

	<i>Potencial Zeta (mV)</i>	<i>Tamanho das partículas (nm)</i>	<i>Índice de polidispersão</i>	<i>Ressuspensão (tempo e agitação)</i>
Controle	-0,643(±2,9)	281,1 (±3,25)	0,185(±0,04)	30s – Manual
Manose 2,5%	-4,13(±0,67)	402,5 (±5)	0,379(±0,01)	30s – Manual
5%	-4,443(±0,6)	284,8(±8,78)	0,156(±0,02)	30s – Manual
10%	-4,237(±0,35)	385,9(±5,47)	0,311(±0,02)	60s – Manual
Sorbitol 2,5%	-2,33(±0,93)	282,8(±6,52)	0,166(±0,35)	30s – Vórtex
5%	-1,64(±2,37)	286,3(±4,57)	0,157(±0,26)	60s – Vórtex
10%	-5,247(±1,02)	297,2(±3,54)	0,135(±0,26)	60s – Vórtex
Trealose 2,5%	-1,767(±1,26)	309,4(±4,09)	0,250(±0,04)	15s – Manual
5%	-1,883(±0,29)	286,6(±6,68)	0,157(±0,04)	15s – Manual
10%	-3,52(±0,4)	277,8(±6,01)	0,171(±0,05)	30s – Manual

FONTE: Próprio autor

3.3 Aspectos Macroscópicos

A integridade macroscópica do liofilizado não deve apresentar qualquer alteração ou colapso, dessa forma continuando com o seu volume inicial, já que quando o produto tem uma perda de estrutura, geralmente apresenta um nível maior de água (MORAIS et al. 2016). Apenas amostras de trealose 5% (Figura 2) e 10% apresentaram uma estrutura altamente porosa, sendo característica de um ótimo liofilizado. As outras amostras apresentaram um aspecto mais rígido e compacto. Todas as formulações apontaram uma coloração branca e a aparência homogênea.

As amostras que colapsavam com frequência, continham uma maior concentração de crioprotetor. Nas amostras de trealose não ocorriam nenhuma alteração no volume. Uma alta concentração de crioprotetor promove uma maior atividade protetora, porém quando é atingido o limite da estabilidade, esse aumento na concentração pode induzir o colapso (MORAIS et al. 2016).

Figura 2: Liofilizado estável com sua estrutura altamente porosa



FONTE: AUTOR

O colapso é definido como a deformação da estrutura do liofilizado que foi formada pelo congelamento da amostra, causada pelo fluxo viscoso do material liofilizado durante a secagem primária ou secagem secundária. Em geral, é considerado prejudicial já que afeta a reconstituição, o nível de umidade e a perda da morfologia ideal. Por isso, para que ocorra uma liofilização adequada, é necessário manter a temperatura da amostra abaixo da sua transição vítrea (T_g) e/ou acima de sua temperatura de colapso (T_c) (KASPER et al. 2013; FONTE et al. 2016).

Quando é analisado o volume final das amostras liofilizadas (Tabela 3), nota-se que mesmo ocorrendo colapsos na amostras de sorbitol 5% e 10% e manose 10%, em relação aos demais, apenas as amostras de sorbitol 5% e a de trealose 2,5% tiveram um volume menor que as demais. Com isso, demonstrando que o colapso não necessariamente esteja envolvido na perda de volume, já que a trealose 2,5% também apresenta um volume menor, mesmo não tendo colapsado.

Tabela 2: parâmetros utilizados para analisar o aspecto macroscópico.

	%	Cor	Aspecto	Aparência	Peso final (média)
Controle	0	Branca	Rígido	Homogênea	28 mg
Manose	2,5	Branca	Rígido	Homogênea	46 mg
	5	Branca	Rígido + colapso	Homogênea	75 mg
	10	Branca	Rígido	Homogênea	97 mg
Sorbitol	2,5	Branca	Rígido	Homogênea	40 mg
	5	Branca	Rígido + colapso	Homogênea	53 mg
	10	Branca	Rígido + colapso	Homogênea	113 mg
Trealose	2,5	Branca	Rígido	Homogênea	32 mg
	5	Branca	Porosa	Homogênea	72 mg
	10	Branca	Porosa	Homogênea	111 mg

FONTE: Próprio autor

3.4 Espectroscopias no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Com o auxílio da espectroscopia de infravermelho pode-se observar a ocorrência de possíveis interações entre as moléculas existentes na formulação, que não são observadas quando separadas (MELO, 2018). Dessa forma, analisando se existem interações dos crioprotetores com a amostra liofilizada, na tabela 4 estão listados todos os picos observados no FTIR.

Tabela 3: Picos observados no FTIR.

FAIXA DE ABSORÇÃO	ATRIBUIÇÃO	ABSORÇÕES IDENTIFICADAS (CM⁻¹)
3400-3200	Estiramento O-H (associado)	3256 – 3310
3000-2840	Estiramento de C-H alifáticos	2905 – 2943
1730-1700	Estiramento C=O de ligação de éster	1720 – 1733
1440-1220	Dobramento CH ₂ e CH ₃	1237 – 1456
1300-1000	Estiramento C-O de éster	1010 – 1188
900-690	Dobramento de C-H de aromáticos	792 – 997

FONTE: Próprio autor.

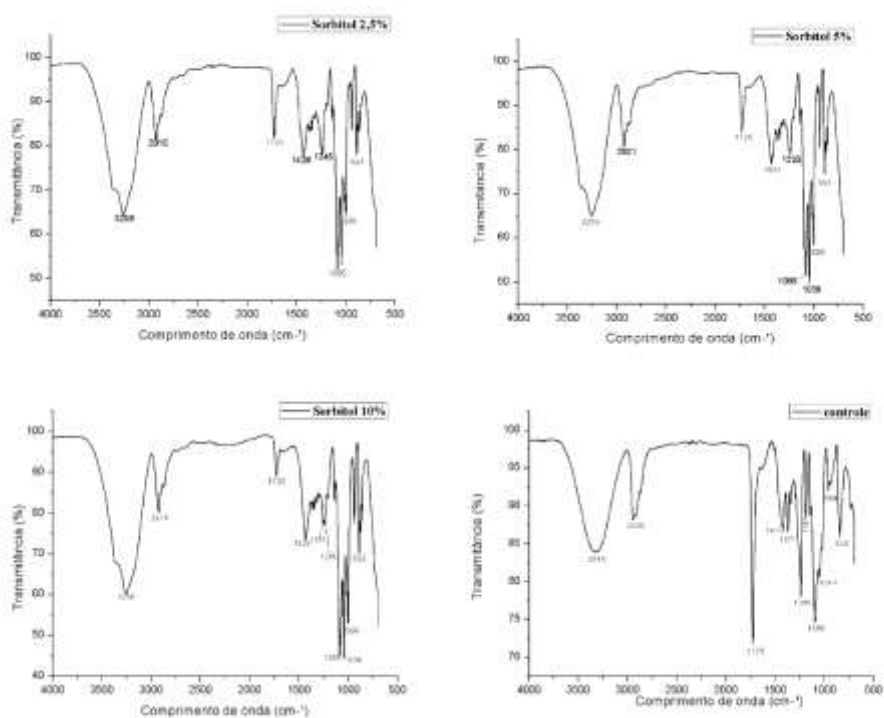
Na amostra controle, podemos identificar facilmente as bandas características do PCL, onde apresentam uma absorção forte, em torno de 1720-1726 cm⁻¹, caracterizada por um grupo carbonila (C=O); outras duas bandas características de menor intensidade aparecem em 2943 e 2865 cm⁻¹, que estão relacionadas a estiramentos alifáticos simétricos e assimétricos de C-H, que correspondem aos grupamentos -CH₂ presentes na estrutura do polímero. Os picos de 1300-1100 cm⁻¹, também são característicos do PCL, e estão relacionados as bandas de vibrações C-O encontradas na molécula (ELZEIN et al. 2004; BADRI et al. 2017; MARCANO, 2017). Outra banda de bastante evidência se encontra próximo de 3400-3200 cm⁻¹, caracterizado por OH associadas, sendo resultante de associações poliméricas características do PVA. O PVA também apresenta bandas entre 3000-2800 cm⁻¹ e estiramento em 1090 cm⁻¹, se sobrepondo com o PCL (NARDI et al. 2015; ISLAM & KARIM, 2010). Os picos relacionados a DEC acabam se sobrepondo com o do polímero, com isso não apresentando na análise.

Em relação às amostras contendo sorbitol (Figura 2), podemos observar que ocorreu modificação na banda larga de -OH encontrada entre 3400 e 3200 cm⁻¹, também observado nas amostras contendo manose (Figura 3) e trealose (Figura 4), provavelmente pela presença abundante de hidroxilas presente em açúcares, pressupondo que esteja ocorrendo interações por pontes de hidrogênios entre o PVA e o crioprotetor. Na espectroscopia contendo manose,

a banda larga de -OH se apresentou mais alterada em comparação aos outros crioprotetores. Em contrapartida a alteração foi menor, onde a trealose 5% ficou mais próxima do controle.

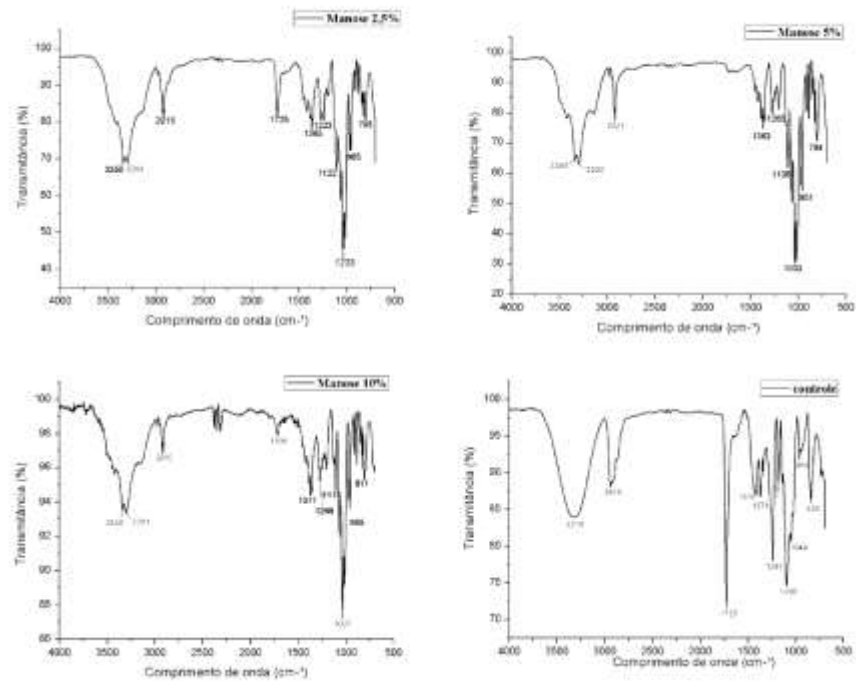
Em relação à banda encontrada em 2943 cm^{-1} , caracterizada por estiramentos alifáticos simétricos e assimétricos de C-H, ocorreram modificações nas amostras de trealose e manose a 10%, onde o pico do polímero quase não aparece na espectroscopia. E acontece o mesmo com o grupo carbonila (C=O), quando aumenta à concentração dos crioprotetores a banda se torna cada vez mais fraca, quase sumindo nas amostras de manose 5% e trealose 10%. Os picos encontrados entre $900\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ são bastante característico de açúcares, sendo de anéis aromáticos (CASTRO & CASSELLA, 2016).

Figura 3: Análise de FTIR comparando a amostra controle com as amostras de Sorbitol 2,5%, 5% e 10%.



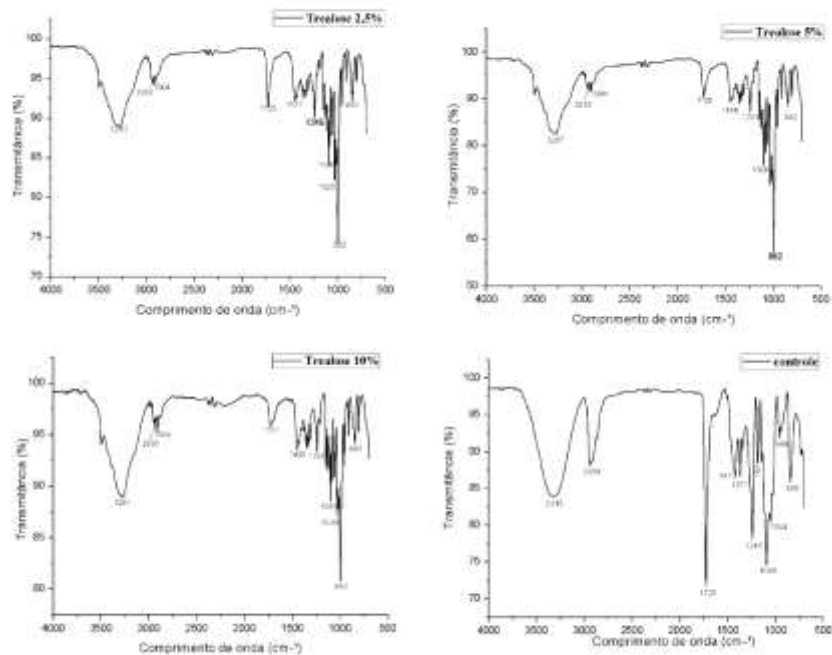
FONTE: AUTOR

Figura 4: Análise de FTIR comparando a amostra controle com as amostras de Manose 2,5%, 5% e 10%.



FONTE: AUTOR

Figura 5: Análise de FTIR comparando a amostra controle com as amostras de Trealose 2,5%, 5% e 10%.



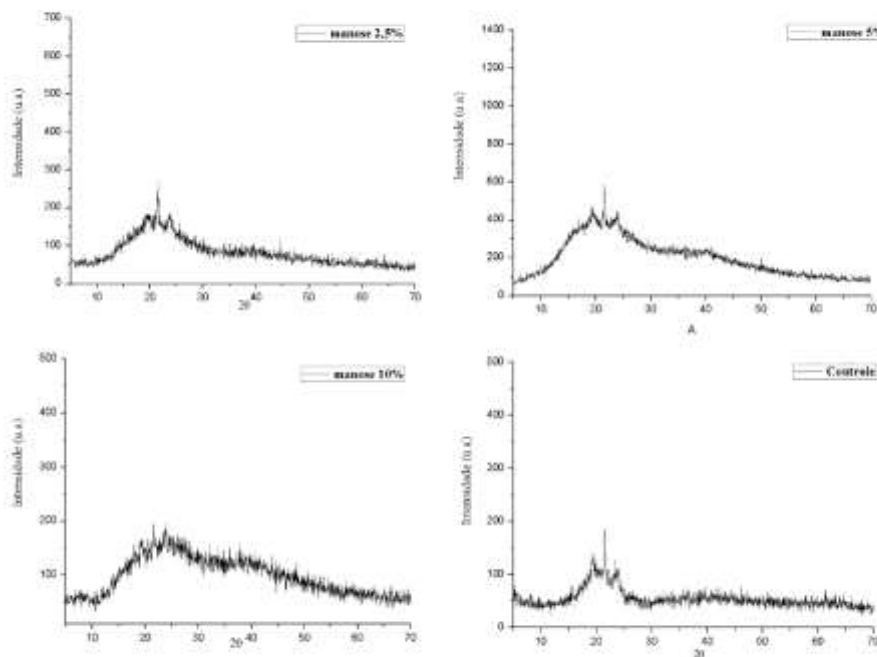
FONTE: AUTOR

3.5 Difração de raio-x (DRX)

Na análise de DRX podemos observar uma sobreposição de picos de cristalinidade característico do PVA e do PCL na amostra controle, onde estão entre os intervalos de 19° - 25°. Esses picos do PVA são devido à ocorrência de fortes ligações de hidrogênio intermolecular e intramolecular (NARDI et al 2015; ISLAM & KARIM, 2010; MARNACO, 2017).

A manose (Figura 5) apresenta intensidades diferentes desses picos de cristalinidade, onde com uma alta concentração do crioprotetor, esse pico quase deixa de existir, e com isso apresentando um estado amorfo. Podemos observar também a diminuição desse pico de cristalinidade na amostra de sorbitol 2,5% (Figura 6), essa diminuição de cristalinidade pode ser por formação de interações de hidrogênio entre os grupos de hidroxila do PVA e o crioprotetor. Com relação a trealose (Figura 7) podemos observar um alto grau de cristalinidade no difratograma, característico desse açúcar. Nota-se que quanto maior a concentração do crioprotetor, maior é o nível de cristalinidade. Onde a amostra trealose 5% apresentou alguns picos significativos entre 10°-25°. A cristalinidade da trealose é o que caracteriza a sua ótima estabilidade como crioprotetor.

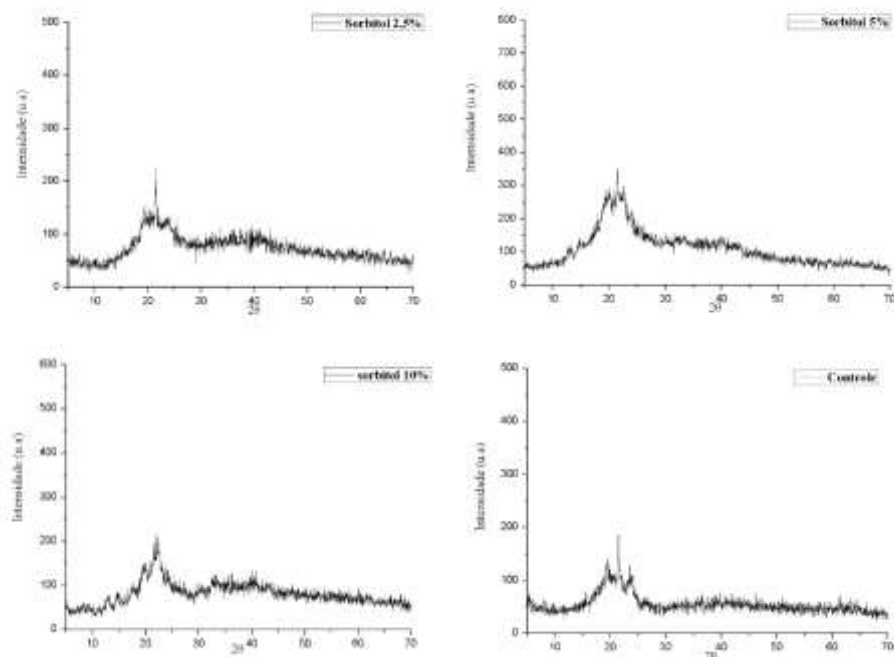
Figura 6: Difratogramas comparando a amostra controle com as de manose 2,5%, 5% e 10%



FONTE: AUTOR

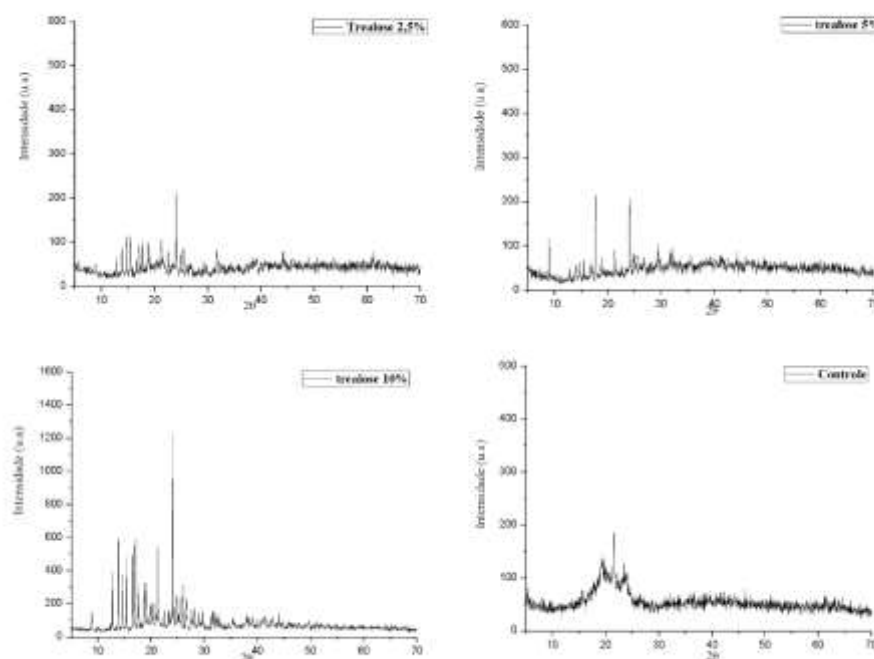
A cristalinidade é um empecilho quando se trata de solubilidade do fármaco, quanto mais o fármaco apresenta um maior grau de cristalinidade, menor será sua solubilidade, (DOROFEEV et al., 2012; JOG; BURGESS, 2017). No entanto, sistemas que apresentem picos de cristalinidade possuem uma maior estabilidade, sendo um ponto positivo para crioprotetores que atendem esse critério, já que garantir a estabilidade é um ponto importante na liofilização.

Figura 7: Difratomogramas comparando a amostra controle com as de sorbitol 2,5%, 5% e 10%



FONTE: AUTOR

Figura 8: Difratomogramas comparando a amostra controle com as de trealose 2,5%, 5% e 10%



FONTE: AUTOR

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de liofilização é uma maneira eficaz de superar a desvantagem causada pela suspensão de nanopartículas em meio aquoso, removendo o teor de água das formulações e garantindo uma melhor estabilidade.

Neste processo, podemos observar a ocorrência de estresse ocasionado por vários parâmetros e que a utilização dos crioprotetores garantiram a estabilidade do sistema em concentrações adequadas. Os dados apresentados e discutidos permitem afirmar que a trealose 5% apresentou um melhor resultado em todos os requisitos analisados no trabalho. Demonstrando uma ótima estabilidade para a liofilização; o resultado de FTIR demonstrou que não houve modificação da nanopartícula contendo a DEC; Com o DRX foi possível observar os picos de cristalinidade apresentados na formulação de trealose 5%. A cristalinidade da

trealose ocasiona uma ótima estabilidade na proteção da formulação durante o processo de liofilização.

Com esses resultados, é possível um melhor direcionamento para análises futuras com a formulação contendo a trealose em 5%, e dessa maneira possibilitando uma formulação que possa ser comercializada futuramente.

REFERÊNCIAS

ABREU, Letícia C. L.; **Preparo E Avaliação De Nanossistemas De Liberação Modificada De Nisina Para Controle E Prevenção De Patologias Ginecológicas**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

ADIBKIAA, Khosro; JAVADZADEHA, Yousef; DASTMALCHIA, Siavoush; MOHAMMADIC, Ghobad; NIRI, Fatemeh K.; ALAEI-BEIRAMIA, Mahmood; Naproxen-eudragit® RS100 nanoparticles: Preparation and physicochemical characterization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 83. 155–159, 2011.

ALIHOSSEINI, Faezeh; GHAFARI, Solmaz; DABIRSIAGHI Ali R.; HAGHIGHAT Setareh; Freeze-drying of ampicillin solid lipid nanoparticles using manitol as cryoprotectant. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 51, n. 4, oct./dec., 2015.

ARAÚJO, Raquel S.; **Desenvolvimento, caracterização e liofilização de nanopartículas e encapsulamento de antibiótico de uso veterinário**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Ouro Preto, 2009.

ASSIS, Letícia M.; ZAVAREZE, Elessandra R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, Carlos; SOUZA-SOARES, Leonor A.; Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, abr./jun. 2012.

BADRI, Waisudin; MILADI, Karim; ROBIN, Sophie; VIENNET, Céline; NAZARI, Qand A.; AGUSTI, Géraldine; FESSI, Hatem; ELAISSARI, Abdelhamid Polycaprolactone Based Nanoparticles Loaded with Indomethacin for Anti-Inflammatory Therapy: From Preparation to Ex Vivo Study. **Pharm Res**, 34, 1773–1783, 2017

BAHETI, Ankit; KUMAR, Lokesh; BANSAL, Arvind K.; Excipients used in lyophilization of small molecules. **J. Excipients and Food Chem.** 1 (1), 2010.

BALEST, Aiessa P.; **Caracterização e estudo de estabilidade de suspensões de nanocápsulas poliméricas contendo óleo de pequi (Caryocar brasiliense Camb).** Monografia apresentado a Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, 2013.

BHATTACHARJEE, S. Review article DLS and zeta potential – What they are and what they are not ? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.

CASTRO, Eduardo; CASSELLA, Ricardo J.; Direct determination of sorbitol and sodium glutamate by attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) in the thermostabilizer employed in the production of yellow-fever vaccine. **Talanta**, 152, 33–38, 2016.

CAZO; Nayara, A.; PEREIRA-FILHO, Edénir R.; SILVA, Maria F. G. F.; FERNANDES, João B.; VIEIRA, Paulo C.; PUHL, Ana C.; POLIKARPOV, Igor; FORIM, Moacir R.; Nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona carregadas com hidrocortisona: preparação usando planejamento fatorial e sua avaliação. **Orbital The Electronic Journal Of Chemistry**, Vol, No. 2, April-June de 2012.

CIZAUSKAITE, Ugnė; MARKSIENE, Ruta; VILIENE, Vilma; GRUZAUSKAS, Romas; BERNATONIENE, Jurga; New strategy of multiple emulsion formation based on the interactions between polymeric emulsifier and natural ingredients. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects** 515, 22–33, 2017.

CHUNG, Nae-Oh; LEE, Min K.; LEE, Jonghwi; Mechanism of freeze-drying drug nanosuspensions. **International Journal of Pharmaceutics**, 437, 42–50, 2012.

DADPARVAR, Miriam; WAGNER, Sylvia; WIEN, Sascha; WOREK, Franz; BRIESEN, Hagen; KREUTER, Jörg; Freeze-drying of HI-6-loaded recombinant human serum albumin nanoparticles for improved storage stability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 88, 510–517, 2014.

DALMOLIN, Luciana F.; KHALIL, Najeh M.; MAINARDES, Rubiana M.; Delivery of vanillin by poly(lactic-acid) nanoparticles: Development, characterization and in vitro evaluation of antioxidant activity. **Materials Science and Engineering**, C 62 (1–8), 2016.

ELZEIN, Tamara; NASSER-EDDINE, Mohamad; DELAITE, Christelle; BISTAC, Sophie; DUMAS, Philippe; FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, 273, 381–387, 2004.

FONTE, Pedro; SOARES, Sandra; COSTA, Ana; ANDRADE, José C.; SEABRA, Vítor; REIS, Salette; SARMENTO, Bruno; Effect of cryoprotectants on the porosity and stability of insulin-loaded PLGA nanoparticles after freeze-drying. **Biomatter** 2:4, 329–339; Oct/Nov/Dec, 2012.

FONTE, Pedro; ARAÚJO, Francisca; SILVA, Cátia; PEREIRA, Carla; REIS, Salette; SANTOS, Hélder A.; SARMENTO, Bruno; Polymer-based nanoparticles for oral insulin delivery: Revisited approaches. **Biotechnology Advances** 33, 1342–1354, 2015.

FONTE, Pedro; ARAÚJO, Francisca; SEABRA, Vítor; REIS, Salette; WEERTE, Marco V.; SARMENTO, Bruno; Co-encapsulation of lyoprotectants improves the stability of protein-loaded PLGA nanoparticles upon lyophilization. **International Journal of Pharmaceutics**, 496, 850–862, 2015.

FONTE, Pedro; REIS, Salette; SARMENTO, Bruno; Facts and evidences on the lyophilization of polymeric nanoparticles for drug delivery. **Journal of Controlled Release**, 225, 75–86, 2016.

GABÍNIO, Brennda M.; **Produção de nanopartículas contendo Dietilcarbamazina para liberação hepato-específica e avaliação em modelo de inflamação hepática aguda.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao programa de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, 2017.

ISLAMA, Shahidul; KARIM, Mohammad R.; Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/alginate blend nanofibers by electrospinning method Md. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.** 366, 135–140, 2010.

KASPER, Julia C.; FRIESS, Wolfgang; The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 78, 248–263, 2011.

KASPER, Julia C.; WINTER, Gerhard; FRIESS, Wolfgang; Recent advances and further challenges in lyophilization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 85, 162–169, 2013.

KODAMA, Tatsuhiro; TAKEUCHI, Masahito; WAKIYAMA, Naoki; TERADA, Katsuhide; Optimization of secondary drying condition for desired residual water content in a lyophilized product using a novel simulation program for pharmaceutical lyophilization. **International Journal of Pharmaceutics**, 469, 59–66, 2014.

LIMA, Marta L.; ALBUQUERQUE, Cristina N.; Preparo e caracterização de nanopartículas de poli(ϵ -caprolactona) contendo megazol, agente anti-chagásico. **Rev. Bras. Farm.** 93(4): 493-498, 2012.

LUCENA, Percília A.; Desenvolvimento e Caracterização de Nanopartículas Poliméricas Contendo Itraconazol. **Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas**, da Universidade Federal de Goiás, 2014.

MARCANO, ROSSANA G. J. V.; Obtenção e avaliação in vitro de nanopartículas de Poli(ϵ Caprolactona) revestidas com quitosana para carreamento de Anfotericina B. **Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas**, UNICENTRO. PR, 2017.

MELO, Camila O.; Nanopartículas de PLA contendo derivado espiro-acridínico com atividade anticancerígena. **Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica**, da Universidade Estadual da Paraíba, 2018.

MORAIS, Andreza R. V.; ALENCARA, Éverton N.; XAVIER-JÚNIOR, Francisco H.; OLIVEIRA, Christian M.; MARCELINO, Henrique R.; BARRATT Gillian; FESSI, Hatem; EGITO, Eryvaldo S. T.; ELAISSARID, Abdelhamid; Freeze-drying of emulsified systems: A Review. **International Journal of Pharmaceutics** 503, 102–114, 2016.

NARDI, Sinara Q. W.; TEIXEIRA, Sirlei D.; PARABOCZ, Cristiane R. B.; Incorporação de fonte de nitrogênio em partículas de PVA e alginato de sódio e estudo da influência de ciclos de congelamento/descongelamento na caracterização do produto. **Polímeros**, 25 (6), 606-613, 2015.

NIKOLAEVA, L. L.; GULYAKIN, I. D.; ORLOVA, O. L.; POLOZKOVA, A. P.; OBOROTOVA, N. A.; SANAROVA, E. V.; LANTSOVA, A. V.; KHLAMOV, V. V.; BUNYATYAN, N. D; Lyophilization as a method for stabilizing pharmaceuticals. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, Vol. 51, No. 4, July, 2017.

OYAFUSO, Márcia H.; **Desenvolvimento e caracterização de sistemas micro e nanoestruturados para a administração cutânea de acetato de dexametasona**. Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, para obtenção do título de Mestre, 2012.

PEIXOTO, Christina A.; SILVA, Bruna S.; Anti-inflammatory effects of diethylcarbamazine: A review. **European Journal of Pharmacology**, 734, 35–41, 2014.

RIBEIRO, Edlene L.; Avaliação dos efeitos da dietilcarbamazina sobre o processo de inflamação agudapulmonar em camundongos. **Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas**, Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

RODRIGUES, Gabriel B.; OLIVEIRA, Elquio E.; MENDONÇA-JUNIOR Francisco J. B.; SANTOS, Laise A. M.; OLIVEIRA, Wilma H.; FRANÇA, Maria E. R.; LÓSA, Deniele B.; GABÍNIO, Brennda M.; LIRA, Fábica C. M. L.; PEIXOTO, Christina A.; Characterization

and evaluation of nanoencapsulated diethylcarbamazine in model of acute hepatic inflammation. **International Immunopharmacology**, 50, 330–337, 2017.

SILVA, Danielle R.; **Caracterização De Gomas Extraídas De Seis Tipos De Sementes De Leguminosas**. Dissertação de mestrado para título em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

SOUTO, Eliana B.; SEVERINO, Patrícia; SANTANA, Maria Helena A.; Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir da Polimerização de Monômeros - Parte I. **Polímeros**, 2011.

STROUSE, Bryan; BIALK, Pawel; KMIEC, Eric B.; This is an Open Access article which permits unrestricted noncommercial use, provided the original work is properly cited. **International Journal of Nanomedicine International Journal of Nanomedicine**. 8, 855–864, 2013.

TOROSEAN, Sason; FLYNN, Brendan; AXELSSON, Johan; GUNN, Jason; SAMKOE, Kimberley S.; HASAN, Tayyaba; DOYLEY, Marvin M.; POGUE, Brian W.; Nanoparticle uptake in tumors is mediated by the interplay of vascular and collagen density with interstitial pressure. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, 9, 151–158, 2013.

VARSHOSAZ, Jaleh; GHAFFARI, Solmaz, KHOSHAYAND, Mohammad R.; ATYABI, Fatemeh; DEHKORDI, JAFARIAN Abbas; KOBARFARD, Farzad. Optimization of freeze-drying condition of amikacin solid lipid nanoparticles using D-optimal experimental design. **Pharmaceutical Development and Technology**, 17(2): 187–194, 2012.

WU, Libo; ZHANG, Jian; WATANABE, Wiwik; Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 63, 456–469, 2011.

YOUSHA, J.; ALI, M. E.; LAMPRECHT, A. Artificial neural network based particle size prediction of polymeric nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 119, p. 333–342, 2017.

WANGA, Haisong; CHENGA, Xiangrong; SHI, Yonghui; LEA, Guowei; Preparation and structural characterization of poly-mannose synthesized by phosphoric acid catalyzation under microwave irradiation. **Carbohydrate Polymers**, 121, 355–361, 2015.

RODRIGUES, Gabriel B.; OLIVEIRA, Elquio E.; MENDONÇA-JUNIOR, Francisco J. B.; SANTOS, Laise A. M.; OLIVEIRA, Wilma H.; FRANÇA, Maria E. R.; LÓS, Deniele B.; GABÍNIO, Brennda M.; PEIXOTO, Christina A.; A new diethylcarbamazine formulation (NANO-DEC) as a therapeutic tool for hepatic fibrosis. **International Immunopharmacology** 64, 280–288, 2018.

AGRADECIMENTOS

Ao profº Drº **Elquio Eleamen Oliveira** pela orientação, por sempre estar a disposição quando precisei (até mesmo no dia do meu aniversário), por ser esse orientador incrível. Agradeço por me ajudar a descobrir o que realmente queria para o meu futuro, por sempre confiar em mim e por ser esse orientador que não se importa somente com a pesquisa, mas com os seus orientandos.

As minhas irmãs mais velhas de laboratório: **Camila de Oliveira Melo** e **Silvana Cartaxo da Costa Urtiga**, por auxiliarem no meu trabalho e sempre estarem ouvindo minhas lamentações (eu ouvi mais de vocês, só pra deixar claro), por me ajudarem nos momentos difíceis e pelos momentos de risadas. Espero que essa nossa amizade se estenda por muitos anos. Sou grata por tudo.

A **Brennda Martins Gabínio** que deu início a pesquisa com as nanopartículas de PCL contendo a DEC, pela sua amizade mesmo em pouco tempo de convivência no laboratório, mas que se estendeu pra vida.

A Dra. **Christina Alves Peixoto**, pela parceria e por disponibilizar a DEC para os estudos.

Aos meus amigos de turma **Otoniel, Maria Helena, Felipe, Jesarela** e principalmente ao **Rogério**, pelo apoio e a amizade. Agradeço por estarem comigo nessa caminhada.

Ao **Rafael Januário** e a **Naara Ferraz**, por ouvirem meus lamentos e estarem comigo mesmo quando não mereço. Agradeço por tudo.

A todos os meus amigos e colegas de trabalho do laboratório **LSVM**.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus** que não me deixou sozinha quando pensei em desistir. Me deu forças para lutar pelos meus ideais e sonhos, por sempre me proteger (convenhamos que Ele tem um trabalho enorme em relação à isso), pois sei que no futuro todo o esforço valerá a pena.

A minha mãe **Maria Santana do Nascimento**, por todo ensinamento dado que não se encontra em uma academia. Pelo amor e suporte e devo tudo que sou a ela. Todo o amor e carinho te agradeço.

A minha tia **Maria Francisca do Nascimento**, por ser a minha segunda mãe e me ajudar em tudo que pode, sei que posso contar com ela nos momentos bons e difíceis.

A minha irmã **Laydy Dayane do Nascimento**, pela amizade e mesmo sendo a irmãzinha mais nova, sempre cuida de mim e vice versa. Nossos pais podem ser diferentes, mas o amor que sinto por você vai além do DNA.

Aos meus primos **Sibelly Dantas, Sarah Suellen, Daniel Arnóbio e Alexandra de Jesus** que além de primos são amigos irmãos para mim. Vivemos momentos maravilhosos juntos e a amizade de vocês é muito importante para mim. A vocês todo o meu amor e gratidão.

A **Maria Júlia** e a **Alice Vitória**, por todo momento de felicidade que me propuseram, fazendo com que eu esquecesse de todo o estresse. A tia Mari ama vocês, e espera sempre está perto de vocês acompanhando a cada passo nessa jornada chamada de vida.

A todos os familiares e amigos que sempre torceram por mim.