

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS GOVERNADOR VALADARES
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E
BIOLOGIA MOLECULAR

Kátia Maria de Oliveira Almeida

**Uso de xantana e ciclodextrina como sistema de liberação controlada de cloreto de
cetilpiridínio**

Governador Valadares

2024

Kátia Maria de Oliveira Almeida

Uso de xantana e ciclodextrina como sistema de liberação controlada de cloreto de cetilpiridínio

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal de Juiz de Fora – *campus* Governador Valadares, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular. Área de concentração: Bioquímica e Biologia Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai

Governador Valadares

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Almeida, Kátia Maria de Oliveira .

Uso de xantana e ciclodextrina como sistema de liberação controlada de cloreto de cetilpiridínio / Kátia Maria de Oliveira Almeida. -- 2024.

107 p.

Orientador: Ângelo Márcio Leite Denadai

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida - ICV. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, 2024.

1. Cloreto de cetilpiridínio. 2. Ciclodextrina. 3. Xantana. 4. Liberação controlada de fármaco. I. Denadai, Ângelo Márcio Leite , orient. II. Título.

Kátia Maria de Oliveira Almeida

Título: *Uso de xantana e ciclodextrina como sistemas de liberação controlada de cloreto de cetilpiridínio*

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular. Área de concentração: Bioquímica e Biologia Molecular.

Aprovada em 30 de janeiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rodrigo Luís Fabri

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Antônio Frederico de Freitas Gomides

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rodrigo Moreira Verly

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Profa. Dra. Nayara Torres Cardoso Marques

Universidade Vale do Rio Doce

Juiz de Fora, 09/01/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Nayara Torres Cardoso Marques, Usuário Externo**, em 31/01/2024, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Moreira Verly, Usuário Externo**, em 31/01/2024, às 16:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Luiz Fabri, Professor(a)**, em 01/02/2024, às 11:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Frederico de Freitas Gomides, Professor(a)**, em 01/02/2024, às 11:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angelo Marcio Leite Denadai, Diretor(a)**, em 02/02/2024, às 13:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1656463** e o código CRC **843B79B3**.

Dedico este trabalho a Deus, ao meu pai Jaime e a minha mãe Deusa (in memória), ao meu falecido esposo, Sérgio, aos meus filhos Ingryd e Sérgio Henrique.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me sustentado durante essa caminhada, onde além dos trabalhos relacionados ao curso, teve muitos momentos difíceis, incluindo perdas de entes queridos.

Aos meus filhos por compreenderem muitas vezes o motivo da minha ausência e por acreditarem em mim.

Ao meu falecido esposo, Sérgio, por sempre me incentivar e me dar o suporte necessário para que eu tivesse condições de me dedicar aos estudos. Hoje ele não está mais entre nós, mas teve participação nessa conquista e ficaria muito feliz se estivesse.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ângelo, por essa oportunidade de continuar como sua orientanda no curso de doutorado, após a conclusão do mestrado. Obrigada pela autonomia, confiança e compreensão ao longo do curso e também pelos ensinamentos compartilhados durante toda a trajetória.

A Profa. Dra. Gabriella, colaboradora na realização dos testes microbiológicos, sempre solícita para contribuir com os seus conhecimentos, enriquecendo este trabalho.

A Profa. Dra. Cibele, a qual foi coordenadora do programa PMBqBM e por diversas vezes me incentivou e ofereceu apoio para que eu tivesse êxito no curso.

Ao Prof. Dr. Jeferson, atual coordenador do programa, pela colaboração na execução de experimentos e por estar sempre disposto a contribuir com seus conhecimentos, em todas as vezes que precisei.

Ao Prof. Dr Fábio Piere, pela colaboração para com este trabalho ao sugerir a inserção de alguns testes e oferecer suporte para a realização dos mesmos.

Aos colegas doutorandos que, por um longo período, mesmo de forma remota, mantiveram a parceria e cumplicidade.

Ao egresso do programa, Dr Thiago Mourão, por colaborar com este estudo em parte dos experimentos envolvendo o sistema xantana/cloreto de cetilpiridínio.

Aos alunos do programa Queila, Mariana e Juliano pelo suporte oferecido em relação ao uso dos laboratórios e pela amizade e companheirismo.

A UFJF e FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudo.

A todos que me incentivaram e apoiaram de alguma forma, muito obrigada.

“O choro pode durar a noite inteira, mas de manhã vem a alegria” (Sl 30:5).

RESUMO

Novas formulações de sistemas de liberação controlada (SLCs) têm chegado ao mercado demonstrando o progresso neste campo. Os SLCs podem ser definidos como tecnologias projetadas para alcançar maior eficiência do fármaco e redução dos efeitos adversos. Nessa perspectiva, o presente estudo testou o cloreto de cetilpiridínio (CCP), um surfactante catiônico, com atividade antimicrobiana de amplo espectro contra bactérias, incluindo *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. Na concentração adequada, o CCP é bastante utilizado como antisséptico, em virtude de sua baixa toxicidade e não irritação das mucosas. O CCP foi combinado com xantana (XANT) e com ciclodextrinas modificadas, hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e poli- β -ciclodextrina (pCD), no intuito de se desenvolver sistemas de liberação controlada deste composto, uma vez que a XANT apresenta capacidade de associação espontânea com compostos catiônicos e as ciclodextrinas (CDs) habilidade de incorporar moléculas hóspedes. As amostras foram caracterizadas no estado sólido por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e análises térmicas (TGA e DTA). As interações entre o CCP com as CDs e com a XANT foram caracterizadas em solução, por espalhamento de luz dinâmico (DLS), medidas de condutividade e do potencial zeta (ZP). A interação do CCP com a XANT foi também investigada por reologia estacionária a 25 °C. Para conhecimento dos parâmetros termodinâmicos de complexação, as interações entre os compostos foram caracterizadas por calorimetria de titulação isotérmica. A ação antimicrobiana dos respectivos complexos formados pelo CCP com a HP β CD (CCP/HP β CD), com a pCD (CCP/pCD) e com a XANT (CCP/XANT) foi avaliada através de estudos biológicos frente a quatro linhagens de *Staphylococcus aureus* e uma linhagem de *Streptococcus mutans*. Os resultados obtidos demonstraram formação espontânea dos complexos de inclusão do CCP em β CDs modificadas e do complexo do CCP com a XANT. Quanto à atividade biológica observou-se que na presença das HP β CD e pCD houve redução da CIM e da DL_{50} frente às linhagens de *S. aureus* sugerindo que os complexos se mostraram promissores para serem utilizados em sistemas de liberação controlada de CCP. Os ensaios de inibição/adesão de *S. mutans* mostraram que o complexo CCP/XANT foi o que apresentou maior inibição da formação de biofilme.

Palavras-chave: cloreto de cetilpiridínio; ciclodextrina; xantana; liberação controlada de fármaco.

ABSTRACT

New formulations of controlled release systems (SLCs) have reached the market demonstrating progress in this field. SLCs can be defined as technologies designed to achieve greater drug efficiency and reduced adverse effects. From this perspective, the present study tested cetylpyridinium chloride (CCP), a cationic surfactant, with broad-spectrum antimicrobial activity against bacteria, including *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans*. At the appropriate concentration, CCP is widely used as an antiseptic, due to its low toxicity and non-irritation of mucous membranes. CCP was combined with xanthan (XANT) and modified cyclodextrins, hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD) and poly- β -cyclodextrin (pCD), in order to develop controlled release systems for this compound, since XANT presents ability to spontaneously associate with cationic compounds and cyclodextrins (CDs) ability to incorporate guest molecules. The samples were characterized in the solid state by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analyzes (TGA and DTA). The interactions between CCP, CDs and XANT were characterized in solution, by dynamic light scattering (DLS), conductivity and zeta potential (ZP) measurements. The interaction of CCP with XANT was also investigated by stationary rheology at 25 °C. To understand the thermodynamic complexation parameters, the interactions between the compounds were characterized by isothermal titration calorimetry. The antimicrobial action of the respective complexes formed by CCP with HP β CD (CCP/HP β CD), with pCD (CCP/pCD) and with XANT (CCP/XANT) was evaluated through biological studies against four strains of *Staphylococcus aureus* and one strain of *Streptococcus mutans*. The results obtained demonstrated spontaneous formation of CCP inclusion complexes in modified β CDs and the CCP complex with XANT. Regarding biological activity, it was observed that in the presence of HP β CD and pCD there was a reduction in MIC and LD_{50} compared to *S. aureus* strains, suggesting that the complexes showed promise for use in controlled CCP release systems. *S. mutans* inhibition/adhesion assays showed that the CCP/XANT complex was the one that showed the greatest inhibition of biofilm formation.

Keywords: cetylpyridinium chloride; cyclodextrin; xanthan; controlled drug release.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Tipos de moléculas poliméricas: a) linear; b) ramificado; c) reticulado	23
Figura 2	- Estrutura química de xantana.....	27
Figura 3	- Rede estruturada de xantana	28
Figura 4	- Fórmula estrutural de uma unidade glicosídica de ciclodextrina	29
Figura 5	- (A) moléculas de α -, β - e γ -CD (ciclodextrina); (B) Representação do complexo de inclusão de compostos em ciclodextrina.....	30
Figura 6	- Estrutura de 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina.....	32
Figura 7	- Estrutura da poli- β -ciclodextrina	33
Figura 8	- Estrutura química do cloreto de cetilpiridínio	36
Figura 9	- Liofilizador SL- 404 Solab	40
Figura 10	- Espectrômetro FTIR Perkin Elmer	41
Figura 11	- Equipamento da HITACHI utilizado para as análises térmicas	41
Figura 12	- ZetaSizer Nano ZS90.....	42
Figura 13	- Calorímetro de titulação isotérmica e itens anexos	44
Figura 14	- Reômetro dinâmico híbrido DHR-1 da T. A. instruments®.....	45
Figura 15	- Representação esquemática. Placa de microdiluição de concentração inibitória mínima e de dose letal mediana de CCP puro.	47
Figura 16	- Espectros na região do infravermelho do CCP, XANT, CCP/XANT e MM.....	49
Figura 17	- Espectros de infravermelho do CCP, juntamente com: HP β CD, CCP/HP β CD ₁ e MM (a), HP β CD, CCP/HP β CD ₂ e MM (b), pCD, CCP/pCD ₁ e MM (c) e pCD, CCP/pCD ₂ e MM (d)	51
Figura 18	- Curva termogravimétrica (a) e Curva térmica diferencial (b) do CCP, XANT, CCP/XANT e MM.....	56
Figura 19	- Curva termogravimétrica (a) e Curva térmica diferencial (b) do CCP, HP β CD, CCP/HP β CD ₁ e MM. Curva termogravimétrica (c) e Curva térmica diferencial (d) do CCP, HP β CD, CCP/HP β CD ₂ e MM.....	58
Figura 20	- Curva termogravimétrica (a) e Curva térmica diferencial (b) do CCP, pCD, CCP/pCD ₁ e MM. Curva termogravimétrica (c) e Curva térmica diferencial (d) do CCP, pCD, CCP/pCD ₂ e MM.....	62
Figura 21	- Variação do diâmetro hidrodinâmico de soluções de XANT em função da concentração de CCP, com ângulo de espalhamento a 90° à 25 °C.....	66

Figura 23 - Variação do diâmetro hidrodinâmico de partículas de solução de CCP a 2 mM em função das concentrações de HP β CD (a) ou de pCD (b), com ângulo de espalhamento 90°, à 25°C	69
Figura 24 - (a) Variação do potencial zeta e (b) da condutividade elétrica da solução de CCP a 2 mM em função das concentrações de HP β CD, com ângulo de espalhamento de 173°, a 25 °C.....	72
Figura 25 - (a) Variação do potencial zeta e (b) da condutividade elétrica da solução de CCP a 2 mM em função das concentrações de HP β CD, com ângulo de espalhamento de 173°, a 25 °C.....	74
Figura 26 - (a) Diluição do CCP a 20 mM em H ₂ O b) Curva final de titulação calorimétrica, após a subtração do branco, de CCP a 20 mM em solução xantana a 1 mg/mL ...	76
Figura 27 - Curva final de titulação calorimétrica, após a subtração do branco de (a) HB β CD a 15 mM em solução de CCP a 1 mM e de (b) pCD a 15 mM em solução de CCP a 1 mM (b)	77
Figura 28 - Curva de titulação viscosimétrica de CCP a 20 mM em xantana 1,0 mg/mL à 25 °C e $\varphi = 1000 \text{ s}^{-1}$	81
Figura 29 - Curva de a) fluxo e b) viscosidade do sistema CCP/XANT a 25 °C ($1 \leq \varphi \leq 500$)	82
Figura 30 - Curva de a) fluxo e b) viscosidade de solução xantana e do complexo CCP/XANT, à 25 °C ($1 \leq \varphi \leq 500 \text{ s}^{-1}$)	83
Figura 31 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra linhagem de <i>S. aureus</i> ATCC 29923, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD ₁ ; CCP/HP β CD ₂ e (c) CCP/pCD ₁ ; CCP/pCD ₂	85
Figura 32 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica <i>S. aureus</i> 170, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD ₁ ; CCP/HP β CD ₂ e (c) CCP/pCD ₁ ; CCP/pCD ₂	86
Figura 33 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica <i>S. aureus</i> 15, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD ₁ ; CCP/HP β CD ₂ e (c) CCP/pCD ₁ ; CCP/pCD ₂	87
Figura 34 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica <i>S. aureus</i> 1369061, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD ₁ ; CCP/HP β CD ₂ e (c) CCP/pCD ₁ ; CCP/pCD ₂	88

Figura 35- Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica <i>S. mutans</i> UA 159 do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD ₁ ; CCP/HP β CD ₂ e (c) CCP/pCD ₁ ; CCP/pCD ₂	89
Figura 36- Estimulação/Inibição da adesão de <i>S. mutans</i> UA 159 em concentrações subinibitórias de: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD ₁ ; CCP/HP β CD ₂ e (c) CCP/pCD ₁ ; CCP/pCD ₂	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas naturais	30
Tabela 2	- Preparo de soluções de CCP em HP β CD e em pCD nas proporções 1:1 e 1:2 ...	39
Tabela 3	- Principais bandas (cm ⁻¹) observadas nos espectros de infravermelho de CCP, XANT, MM e CCP/XANT.....	51
Tabela 4	- Principais bandas (cm ⁻¹) observadas na região do infravermelho para a hidroxipropil- β -ciclodextrina, complexos e misturas mecânicas	54
Tabela 5	- Principais bandas (cm ⁻¹) observadas na região do infravermelho para a poli- β -ciclodextrina, complexos e misturas mecânicas	55
Tabela 6	- Tabela com os principais eventos térmicos atribuídos ao CCP, XANT, CCP/XANT e MM.....	58
Tabela 7	- Principais eventos térmicos atribuídos ao CCP, HP β CD, CCP/HP β CD ₁ , CCP/HP β CD ₂ e respectivas MMs.....	61
Tabela 8	- Tabela com os principais eventos térmicos atribuídos ao CCP, pCD, CCP/pCD ₁ , CCP/pCD ₂ e respectivas MMs	65
Tabela 9	- Parâmetros termodinâmicos de interação cloreto de cetilpiridínio com xantana, a 298,15 K	76
Tabela 10	- Parâmetros termodinâmicos de interação cloreto de cetilpiridínio com hidroxipropil- β -ciclodextrina, onde $Tint\Delta S^o$ (Termo entrópico da interação) a 298,15 K	78
Tabela 11	- Parâmetros termodinâmicos de interação cloreto de cetilpiridínio com poli- β -ciclodextrina, onde $Tint\Delta S^o$ (Termo entrópico da interação) a 298,15 K.....	79
Tabela 12	- Determinação da concentração inibitória mínima do CCP puro e complexado contra as quatro linhagens de <i>S. aureus</i> (ATCC 29923, 170, 15 e 1369061) e a linhagem AU 159 de <i>S. mutans</i>	89
Tabela 13	- Determinação da dose letal mediana do CCP puro e complexado contra as quatro linhagens de <i>S. aureus</i> (ATCC 29923, 170, 15 e 1369061) e a linhagem AU 159 de <i>S. mutans</i>	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

β CD	β -ciclodextrina
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CD	Ciclodextrina
CCP	Cloreto de cetilpiridínio
CI	Complexo de inclusão
CCP/HP β C	Complexo cloreto de cetilpiridínio com hidroxipropil- β -ciclodextrina
CCP/pCD	Complexo cloreto de cetilpiridínio com poli- β -ciclodextrina
CCP/XANT	Complexo cloreto de cetilpiridínio com xantana
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DLS	Espalhamento de luz dinâmico (do inglês <i>Dynamic Light Scattering</i>)
D_h	Diâmetro hidrodinâmico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTA	Análise térmica diferencial
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês <i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>)
HP β CD	Hidroxipropil- β -ciclodextrina
ITC	Calorimetria de titulação isotérmica (do inglês <i>Isothermal titration calorimetry</i>)
MELD	Micro-eletroforese laser-doppler
MH	Muller Hinton
MM	Mistura mecânica
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente à meticilina (do inglês <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>)
MTT	Brometo de tetrazólio 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil
pCD	Poli- β -ciclodextrina
pH	Potencial hidrogeniônico
SLC	Sistema de liberação controlada de fármaco
TGA	Análise termogravimétrica
XANT	Xantana
ZP	Potencial zeta

LISTA DE SÍMBOLOS

$\Delta_{int}H^{\circ}$	Variação da entalpia (J)
$T\Delta_{int}S^{\circ}$	Variação da energia entrópica (J)
$\Delta_{int}G^{\circ}$	Variação da energia livre de Gibbs (J)
K_a	Constante de equilíbrio aparente (adimensional)
J	Joules (unidade de energia)
Pa	Pascal (unidade de pressão ou de tensão de cisalhamento)
mM	Milimolar (unidade de concentração)
mmol	Milimol (unidade de quantidade de substância)
mV	Milivolts (energia por unidade de carga – unidade de potencial zeta)
N	Estequiometria na Calorimetria de Titulação
η	Viscosidade (Pa.s)
ϕ	Taxa de cisalhamento (1/s) na reologia estacionária
τ	Tensão de cisalhamento (Pa)
k	Condutividade elétrica
ν	Modo de estiramento vibracional nos espectros de infravermelho
δ_{ang}	Modo de deformação angular vibracional nos espectros de infravermelho

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	20
2.2	POLÍMEROS	23
2.3	CICLODEXTRINAS	28
2.4	MICROORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA	33
2.4.1	<i>Streptococcus mutans</i>	33
2.4.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	34
2.5	CLORETO DE CETILPIRIDÍNIO	35
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVO GERAL.....	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	MATERIAIS E REAGENTES UTILIZADOS.....	38
4.2	SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DA pCD	38
4.3	PREPARO DOS COMPLEXOS E MISTURAS MECÂNICAS	39
4.3.1	Preparo do complexo CCP com XANT e dos complexos de inclusão de CCP em ciclodextrinas e respectivas misturas mecânicas	39
4.4	CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS	40
4.4.1	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier	40
4.4.2	Análises térmicas (curvas TGA e DTA)	41
4.4.3	Caracterização coloidal dos sistemas CCP/XANT, CCP/HPβCD e CCP/pCD ..	41
4.4.3.1	<i>Sistema CCP/XANT</i>	41
4.4.3.2	<i>Sistemas CCP/HPβCD e CCP/pCD</i>	43
4.4.4	Titulações por calorimetria de titulação isotérmica	43
4.4.5	Determinação dos parâmetros reológicos do complexo CCP/XANT	44
4.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS	45
4.5.1	Microrganismos utilizados	45
4.5.2	Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana	45
4.5.3	Inibição/estimulação da adesão de <i>S. mutans</i>	47
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	CARACTERIZAÇÕES DOS COMPLEXOS	49

5.1.1	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier	49
5.1.2	Análise térmica: termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA)	55
5.1.3	Caracterização coloidal dos sistemas CCP/XANT, CCP/ HPβCD e CCP/pCd..	65
5.1.3.1	<i>Sistema CCP/XANT.....</i>	65
5.1.3.2	<i>Sistemas CCP/HPβCD e CCP/pCD</i>	69
5.1.4	Titulações por calorimetria de titulação isotérmica.....	75
5.1.4.1	<i>Sistema CCP/XANT.....</i>	75
5.1.4.2	<i>Sistemas CCP/HPβCD e CCP/pCD</i>	77
5.1.5	Determinação dos parâmetros reológicos do complexo CCP/XANT	80
5.2	ENSAIOS BIOLÓGICOS	84
5.2.1	Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana	84
5.2.2	Inibição/estimulação da adesão de <i>S. mutans</i>	91
6.	CONCLUSÕES	95
	REFERÊNCIAS	97

1 INTRODUÇÃO

Novas formulações de sistemas de liberação controlada (SLCs) têm chegado ao mercado demonstrando o progresso neste campo ao longo das últimas décadas. Essa progressão começou em 1952 com a introdução da primeira formulação de SLCs, o *Spansule*, lançada por Smith Kline & French para a administração oral de dextroanfetamina por 12 horas. A nova forma farmacêutica consistia em cápsulas de grânulos revestidos que dissolviam em tempos diferentes (PARK; OTTE; PARK, 2022). Inicialmente os estudos se concentraram no desenvolvimento de sistemas de administração oral e transdérmica e no estabelecimento de mecanismos de liberação. A partir de 1980, os estudos focaram em formulações de sistemas nanoestruturados, resultando em uma grande variedade de nanocarreadores, tais como, lipossomas, nanopartículas poliméricas, micelas, nanocompósitos, dendrímeros, ciclodextrina, entre outros (PARK, 2014).

Os SLCs podem ser definidos como tecnologias projetadas para alcançar maior potencialização do efeito terapêutico, controle da absorção e distribuição tecidual, redução da toxicidade, maior solubilidade e estabilidade, menor quantidade do princípio ativo, maior intervalo de administração e maior adesão do paciente (TIBBITT; DAHLMAN; LANGER, 2016). A seleção do método mais adequado para o desenvolvimento desses sistemas depende de fatores como, custo, perfil de liberação desejado e propriedades do fármaco. Os excipientes devem atender a certos requisitos como: ser estável, não tóxico e capaz de incorporar o fármaco e liberá-lo no local de interesse (RISSI et al., 2014).

Os polímeros naturais, naturais modificados e totalmente sintéticos desempenham papel fundamental para as aplicações farmacêuticas e biomédicas. Por essa razão, as suas características mecânicas e físicas vêm sendo estudadas e aprimoradas, quanto à eficiência de liberação, sobretudo, ao longo das últimas décadas (GUTIERREZ CISNEROS et al., 2021). Esses materiais apresentam grande potencial para o desenvolvimento de SLCs, podendo apresentar propriedades terapêuticas e atuar como bioadesivos e hidrogéis, os quais são redes poliméricas hidrofílicas com características físico-químicas que os tornam adequados para o uso em tecidos humanos (MALIK; AHMAD; MINHAS, 2017).

As indústrias farmacêuticas demonstram interesse e se dedicam ao desenvolvimento de complexos formados por biopolímeros, devido à simplicidade em seu processo de preparo, além das propriedades particulares e valiosas, as quais se diferem daquelas apresentadas pelos compostos isolados (MOKHTARZADEH et al., 2016). Tais propriedades resultam das interações intermoleculares entre grupos de macromoléculas com carga oposta, das ligações

de hidrogênio e das interações hidrofóbicas, em solução aquosa (DERKACH; VORON'KO; KUCHINA, 2022).

Os dispositivos uma vez formados protegem o fármaco de modificações físico-químicas e enzimáticas no ambiente biológico ou mesmo na prateleira, possibilitando a manipulação destes sistemas, de forma que a modificação do meio onde estão inseridos permita a liberação controlada, otimizando a biodisponibilidade e farmacocinética (PARK; OTTE; PARK, 2022). As gomas/polissacarídeos (xantana, alginato de sódio, carragenano, quitosana, goma guar, etc) são preferidos para a liberação controlada de fármacos devido às suas características como biocompatibilidade, biodegradabilidade e elevada hidrofilia (ZARE et al., 2019). Outros compostos que também se destacam para o uso em sistemas supramoleculares para a liberação de fármacos são as ciclodextrinas (CDs) devido a sua biocompatibilidade e capacidade de formar compostos de inclusão (JACOB; NAIR, 2018).

A xantana (XANT) é um dos principais biopolímeros utilizados como agente espessante, estabilizante e emulsificante para alimentos, cosméticos, produtos farmacêuticos e agrícolas. Seu uso se deve às propriedades reológicas de suas soluções, ou seja, sua capacidade de aumentar significativamente a viscosidade de líquidos, mesmo em baixas concentrações. O emprego em aplicações alimentares e farmacêuticas é viabilizado por propriedades inerentes aos biopolímeros, sobretudo, a não toxicidade (PATEL et al., 2020).

A XANT é considerada uma candidata ideal para o desenvolvimento de SLCs (LUO; WANG, 2014), uma vez que é capaz de formar par iônico com fármacos catiônicos, além de possuir propriedades de aderência, o que favorece o seu uso para a liberação de medicamentos. Além disso, a XANT apresenta maior estabilidade contra degradação e hidrólise, comparando-se a outros polissacarídeos, mostrando-se estável na presença de eletrólitos e numa ampla faixa de temperatura e pH. O biopolímero pode ser empregado em SLCs em diversas formas farmacêuticas, tais como nanoformulações, comprimidos, filmes e hidrogéis. Devido a sua natureza hidrofílica, o seu uso é mais recomendado para a incorporação de fármacos solúveis, limitando a incorporação de fármacos hidrofóbicos em altas concentrações. O mecanismo de liberação depende da solubilidade do fármaco. Em geral, para fármacos insolúveis o mecanismo de liberação está associado ao inchaço e erosão da matriz à base de xantana. Para fármacos solúveis a liberação ocorre por difusão (CORTES et al., 2020).

As CDs são oligossacarídeos cíclicos nos quais as unidades glicosídicas estão unidas através de uma ligação C-O-C do tipo α -(1-4), capazes de modular propriedades que afetam o desempenho e os perfis terapêuticos dos medicamentos, aumentando a solubilidade aquosa e a

taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, reduzindo reações adversas, como irritação gastrointestinal ou ocular (REAL et al., 2021). Além disso, aumentam a permeabilidade através de membranas biológicas, melhoram as propriedades organolépticas, aumentam a estabilidade do fármaco, reduzem a volatilidade, resultando em maior vida útil e biodisponibilidade das formulações (MUANKAEW; LOFTSSON, 2018).

As CDs são altamente versáteis, apresentando características multifuncionais, o que justifica o seu elevado uso como excipiente farmacêutico nas últimas décadas e a continuidade dos estudos para novas aplicações. O fato se deve, sobretudo, à capacidade de formarem complexos de inclusão (CI) com uma grande variedade de moléculas em meio aquoso, o que ampliou a aplicabilidade desses materiais em vários sistemas de administração de fármacos, incluindo os de administração ocular, osmótica, mucoadesiva, transdérmica, nasal e em SLCs.

Em geral, os fármacos que se beneficiam da encapsulação são aqueles com baixa solubilidade aquosa, baixa dissolução e que apresentam tamanho e geometria compatíveis com a CD (JACOB; NAIR, 2018). A polaridade da molécula hóspede é uma característica a ser observada, uma vez que moléculas hidrofóbicas apresentam maior afinidade pela CD. A sua porção hidrofóbica se acomoda na cavidade apolar da CD e a porção hidrofílica deve ser capaz de se adaptar de modo a realizar interações com o solvente e com os grupos OH da parte externa da CD (JAMBHEKAR; BREEN, 2016).

Monitorar os parâmetros termodinâmicos para otimizar a razão molar fármaco/CD pode resultar em uma melhor biodisponibilidade. A estequiometria 1:1 tem sido usada na maioria das formas farmacêuticas, no entanto, podem ocorrer diferentes razões estequiométricas tais como, 1:2, 2:1 e 2:2 (JAMBHEKAR; BREEN, 2016).

De todos os sítios do corpo humano, a cavidade bucal é o que abriga a maior quantidade de microrganismos. Centenas de espécies bacterianas, a maioria comensal e necessária à manutenção do ecossistema. No entanto, numa situação de desequilíbrio, esses microrganismos podem expressar patogenicidade, levando ao desenvolvimento de doenças bucais, das quais as de maior prevalência são a cárie dentária e doenças periodontais. Esta condição desequilibrada na qual a estrutura normal do microbioma é perturbada é chamada de disbiose (DAHLEN; BASIC; BYLUND, 2019).

A deficiência na higiene bucal e conseqüente acúmulo de placa bacteriana (biofilme) levam ao aparecimento de gengivite, a qual se não tratada, pode desenvolver periodontite, que por sua vez, pode resultar em perda do tecido de inserção dos dentes (BUSHEHAB et al., 2022). O controle do acúmulo de microrganismos sobre os dentes, através da correta higiene

oral e do uso de antimicrobianos, é considerado um coadjuvante na prevenção de cárie dentária e doença periodontal.

Uma série de substâncias químicas vem sendo estudada visando obter uma maior inibição da proliferação microbiana. Dentre elas se destaca o cloreto de cetilpiridínio (CCP), o qual reduz significativamente os microrganismos da placa bacteriana. No entanto, são relatadas algumas desvantagens em relação a seu uso, tais como rápida liberação e neutralização por ânions. Quando usado em concentrações mais altas e de forma prolongada, pode ocasionar pigmentação nos dentes e sensação de queimação na língua (NAVABI et al., 2023).

A XANT apresenta capacidade de associação espontânea com compostos catiônicos e as β CDs habilidade de incorporar moléculas hóspedes. Em vista disso, no presente trabalho, o CCP foi combinado com xantana e com β -ciclodextrinas (β CDs) modificadas, hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e poli- β -ciclodextrina (pCD) com o intuito de se desenvolver sistemas de liberação controlada deste composto, buscando aumentar o seu tempo de ação em tecidos alvos e reduzir os efeitos adversos. A escolha de se trabalhar com β CDs modificadas se deu pelo fato de já existir trabalho com β CD natural (MIRANDA, 2020).

Streptococcus mutans (*S. mutans*) foi um dos microrganismos escolhido por ser um patógeno envolvido na formação de biofilmes nas superfícies dos dentes, representando o principal agente etiológico da cárie dentária em humanos. O desenvolvimento do biofilme é um processo sequencial que se inicia com uma associação frouxa dos microrganismos a uma superfície, a qual se dá a partir de ligações físico-químicas (ligações covalentes, iônicas e pontes de hidrogênio) ou através de pontes estabelecidas por polímeros extracelulares produzidos pelos microrganismos, que se não for interrompida, resulta na formação de um biofilme altamente estruturado e aderente. Por isso, interromper o mecanismo de detecção da superfície bacteriana e o seu processo inicial de ligação às superfícies é de suma importância (ROKAYA et al., 2018; STERZENBACH et al., 2020; ZHENG et al., 2021).

Já *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) foi escolhido por ser um importante patógeno relacionado a vários processos infecciosos, tais como, infecções cutâneas, abscessos, pneumonia, endocardite e osteomielite, contra os quais o tratamento efetivo tem se tornado cada vez mais desafiador devido à crescente incidência de cepas multirresistentes, o que configura um problema de saúde global (DE SOUSA et al., 2021).

O total de mortes por *S. aureus* resistente à meticilina (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus* - MRSA) é comparável ao número de mortes causadas pelo HIV, com

estimativa de que até 2050, 10 milhões de pessoas poderão morrer anualmente em todo o mundo, devido à resistência antimicrobiana (NICOLAS et al., 2019).

A evolução dos mecanismos de resistência aos antimicrobianos, sobretudo devido ao uso generalizado, e o surgimento de novos patógenos torna necessária a proteção dos compostos já existentes, uma vez que a taxa de descoberta de novos antimicrobianos é lenta. O uso destes compostos deve ser limitado apenas a situações nas quais sejam imprescindíveis. Concomitantemente novas estratégias terapêuticas devem ser encontradas, visando formulações com mínimos efeitos adversos, cujas ações sejam direcionadas ao patógeno de interesse e aos seus mecanismos de virulência, inclusive preservando a microbiota intestinal (LANGDON; CROOK; DANTAS, 2016; MIRANDA et al., 2020).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Nos últimos anos, uma série de avanços tem sido alcançada no tocante a técnicas de liberação de fármacos, com publicações e novas aplicações, de uma maneira até então, nunca vivenciada (CHEN et al., 2019; PARK, 2014). Essas novas aplicações incluem os SLCs, os quais são capazes de controlar a taxa de liberação do princípio ativo e sustentar a duração da ação terapêutica, visando à liberação em tecidos específicos (DE SOUSA; BRAGA; SOSNIK, 2015).

A administração direcionada, evita, entre outras coisas, a exposição da microbiota ao antimicrobiano, o que pode reduzir o surgimento de genes de resistência, cujo intestino tem demonstrado ser um reservatório. Além disso, os SLCs podem oferecer estratégias para prevenir a formação de biofilme e/ou possibilitar a penetração do fármaco nos biofilmes já estabelecidos, apresentando potencial para a mitigação não só de infecções, mas também do surgimento da subsequente resistência antimicrobiana (KELLY et al., 2020; LIU; LI; SHI, 2021).

Vários carreadores têm sido utilizados para modular e melhorar a distribuição de fármacos, tais como, lipossomas, dendrímeros, micelas, nano/micropartículas, emulsões, polímeros e ciclodextrinas (MIRANDA et al., 2020). Os sistemas poliméricos têm sido muito estudados para incorporação de substâncias ativas graças às suas vantagens em termos de estabilidade, sobretudo os sistemas à base de polissacarídeos naturais, por serem sustentáveis, biocompatíveis, biodegradáveis, não tóxicos e suscetíveis a modificações químicas (AHMAD et al., 2019).

Os principais polímeros naturais que já foram investigados para uso nessa área incluem polissacarídeos como, xantana, dextrana, pectina, quitosana, alginato, celulose, ácido hialurônico, galactomanana, carragena e goma guar (DE SOUSA; BRAGA; SOSNIK, 2015; KONG; KIM; PARK, 2016) e polipeptídeos como, colágeno, albumina, elastina e gelatina (YILDIZ; KARA; ACARTÜRK, 2020). Macromoléculas biológicas tendem a se organizar, buscando uma orientação mais estável, através de interações não covalentes tais como, interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e de Van der Waals, sendo necessário as conhecer e as provocar durante o processo de preparação dos SLCs (AHMAD et al., 2019).

Os SLCs utilizam uma “barreira” química ou física para proporcionar uma liberação lenta da dose terapêutica, normalmente através de revestimento ou microencapsulação do fármaco. Nesses sistemas, o fármaco pode estar dissolvido ou disperso na matriz polimérica, no estado líquido ou sólido, e na sua liberação estão envolvidos processos físicos e químicos. Ele pode estar ligado quimicamente à cadeia polimérica e ser liberado por hidrólise, ataque enzimático ou pela degradação da matriz (PEPPAS; NARASIMHAN, 2014).

Todos os esforços dedicados ao desenvolvimento de SLCs se justificam pelo fato destes apresentarem muitas vantagens em relação às formulações convencionais. Estes sistemas permitem a manutenção da concentração do fármaco na corrente sanguínea, dentro da faixa terapêutica, por períodos prolongados, promovendo o aumento da sua meia-vida e a redução de sua toxicidade (YILDIZ; KARA; ACARTURK, 2020).

No modo convencional de administração de fármacos, muitas vezes, a concentração plasmática alcança um pico rapidamente e depois cai drasticamente, liberando o fármaco em pouco tempo após a administração, o que geralmente requer aumento da dosagem e da frequência da mesma. A concentração alta do fármaco na corrente sanguínea, normalmente induz a efeitos adversos, ao passo que o efeito terapêutico é insuficiente na fase posterior (CHEN et al., 2020). Quando a liberação ocorre de forma controlada e gradativa, obtém-se um maior controle da taxa, duração e do local desejados. Como resultado, tem-se redução da irritação local; maximização da relação eficácia-dose; redução das reações adversas; aumento dos intervalos de administração; redução dos custos globais com a saúde em longo prazo e aumento da adesão do paciente (CHEN et al., 2019).

O estudo pioneiro utilizando SLCs data do final dos anos de 1940 e início dos anos 1950, onde o objetivo inicial era reduzir a frequência das doses e, sobretudo, manter os níveis plasmáticos do fármaco dentro da janela terapêutica (CHEN et al., 2019). Essa moderna tecnologia teve início em 1952 com o advento da introdução de cápsulas de liberação sustentada Spansule®, por Smith Klein Beecham, a qual era capaz de controlar a cinética de liberação do fármaco e atingir eficácia de 12 horas (PARK; OTTE; PARK, 2022; YUN; LEE; PARK, 2015).

Park (2014) fez uma retrospectiva do progresso da tecnologia em liberação controlada e relatou que desde a primeira formulação até o final da década de 1970, o entendimento básico desses sistemas foi estabelecido com a compreensão dos diferentes mecanismos de liberação de fármaco, incluindo dissolução, difusão, osmose e aqueles baseados na troca iônica. De acordo com o autor, a primeira geração de SLCs (1950-1980) focou em sistemas orais e transdérmicos e em mecanismos de controle da liberação. A segunda geração (1980-

2010) foi dedicada ao desenvolvimento de SLCs de ordem zero, com foco na nanotecnologia. Foram desenvolvidos sistemas utilizando polímeros e hidrogéis inteligentes, sensíveis a fatores como, pH, temperatura ou níveis de glicose. Kreuter e Speiser (1976) parecem estar entre os primeiros a utilizar o termo “nanopartícula”, ao estudar o uso de um adjuvante (metacrilato de metila) na preparação de uma vacina contra influenza. A terceira geração ainda não foi estabelecida e traz consigo vários desafios, entre eles, o desenvolvimento de sistemas de liberação em longo prazo (6 meses a 1 ano) (PARK, 2014).

Apesar dos desafios, muitos avanços já foram alcançados. Uma busca rápida através da base de dados *Orange Book* da *Food and Drug Administration* (FDA) utilizando a expressão “*Drug delivery systems*”, fornece uma lista com 2755 resultados, com centenas de produtos aprovados para serem administrados através da liberação controlada (FDA, 2024).

No campo da liberação controlada os polissacarídeos naturais são os materiais poliméricos mais comumente utilizados, devido às suas propriedades diferenciadas, talvez os mais populares nessa área (DE SOUSA; BRAGA; SOSNIK, 2015).

Esses compostos apresentam características hidrofílicas e por isso podem também ser utilizados na preparação de formas farmacêuticas denominadas bioadesivas. A bioadesão é uma propriedade que um material possui de se aderir a um tecido biológico, sendo usado também o termo mucoadesão, quando o local de adesão é o muco ou uma membrana mucosa. Os polímeros hidrofílicos interagem com as glicoproteínas presentes no muco através de ligação de hidrogênio pelo fato de possuírem numerosos grupos funcionais como, carboxilas, hidroxilas, amidas e aminas. Acredita-se que neste mecanismo estejam envolvidos eventos de adsorção, espalhamento do material bioadesivo à mucosa e interpenetração entre cadeias do polímero e da mucosa. A bioadesão é utilizada como estratégia para direcionar o fármaco para um determinado local ou tecido, diminuindo a toxicidade e para aumentar o tempo de contato do carreador do fármaco com a mucosa, melhorando a biodisponibilidade e reduzindo o número de doses diárias (BHATTA et al., 2018; KHALID et al., 2014).

A XANT é um dos polissacarídeos mais utilizados em SLCs. Já foi relatado que pequena quantidade do biopolímero pode ser usada para retardar a liberação de princípios ativos *in vitro* (OPREA et al., 2013) com cinética de liberação de ordem zero, ou seja, independente da concentração (HANNA; SAAD, 2019).

Outro sacarídeo, descoberto há mais de um século, mas que continua sendo um dos mais proeminentes é a ciclodextrina (CD) e seus derivados em nível supramolecular. O fato se deve a sua capacidade em formar complexo de inclusão (CI), no qual a macromolécula atua como hospedeira, interagindo por meio de ligações não covalentes com moléculas orgânicas

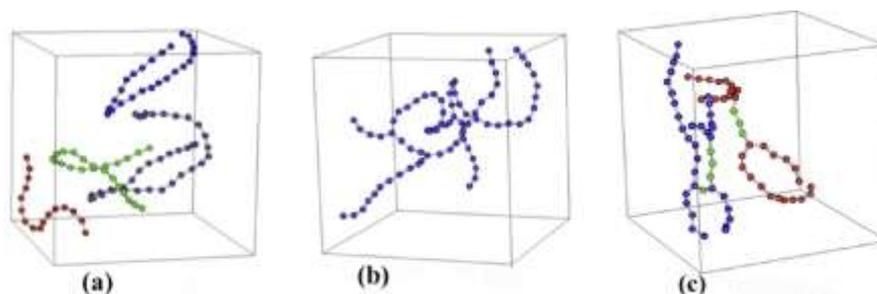
de região hidrofóbica e dimensões adequadas (REAL et al., 2021). As CDs são amplamente utilizadas em SLCs para modular diversas propriedades que afetam o desempenho e os perfis terapêuticos dos medicamentos, uma estratégia bem sucedida para melhorar a ação e desenvolver fármacos mais potentes e menos tóxicos (SUÁREZ et al., 2014).

2.2 POLÍMEROS

O termo polímero se refere a macromoléculas de elevada massa molar, constituídas por unidades menores, os monômeros, os quais se repetem várias vezes (JOSEPH et al., 2023). Esses compostos químicos podem ser de origem natural ou sintética, resultantes de reações químicas denominadas polimerizações (FECHINE, 2013). Os polímeros de origem natural são denominados biopolímeros e se encontram disponíveis na natureza como parte do ciclo de vida dos seres vivos. A esse grupo se incluem os polissacarídeos, como celulose, xantana, quitina, amido, lã, seda, gelatina e colágeno (CAGIL, 2020; FECHINE, 2013). Eles podem também ser sintetizados a partir de fontes naturais renováveis, geralmente carboidratos derivados de plantas, como amido, celulose e sacarose (SMITH et al., 2020).

A forma como os monômeros se repetem na cadeia polimérica acarreta variações em sua estrutura, com conseqüentes diferenças no comportamento físico-químico do polímero, definindo, por exemplo, suas propriedades térmicas e reológicas (AHMAD; et al., 2019). De acordo com a Figura 1, quando os monômeros estão ligados entre si, formando uma sequência contínua, a cadeia é linear (a); quando as moléculas monoméricas formam ramificações, com cadeias laterais ligadas à cadeia principal, o polímero é chamado ramificado (b) e quando as unidades são conectadas de forma tridimensional formando uma rede, o polímero é reticulado ou possui ligações cruzadas, chamadas *crosslinks* (c) (GULCHEXRA; DILMUROD, 2021).

Figura 1 - Tipos de moléculas poliméricas: a) linear; b) ramificado; c) reticulado



Fonte: (DENG; SHI, 2016).

Quanto aos biopolímeros, o seu uso vem crescendo nos últimos anos por parte das indústrias alimentícias, de cosméticos, médica e de produtos farmacêuticos, sobretudo, em formulações para a liberação de fármacos, devido às suas vantagens como fácil obtenção, biocompatibilidade e biodegradabilidade (KONG; KIM; PARK, 2016). Neste campo se destacam os polissacarídeos, que já são produzidos tradicionalmente por via microbiológica, derivados de produtos agrícolas, os quais são fontes de carbono de baixo custo (CAGIL, 2020). O uso dos polissacarídeos na área biomédica, sobretudo, em terapias de liberação de fármacos, encontra uma grande variedade de aplicações e funcionalidades, atribuídas principalmente a sua participação em funções importantes do organismo como estrutura de membrana e comunicação intracelular (MOHAMMED; NAVEED; JOST, 2021).

Polissacarídeos são polímeros naturais que podem ter origem animal, vegetal, microbiana, fúngica ou a partir de algas, representando um dos grupos de compostos mais abundantes na natureza. Trata-se de uma classe de carboidratos formada por macromoléculas constituídas pela união em cadeia de centenas ou milhares de monossacarídeos, através de ligações glicosídicas (KABIR et al., 2022). Dependendo da natureza das unidades de monossacarídeos, da posição e do tipo de ligação, eles podem apresentar cadeia linear, como a celulose (resíduos de D-glicose unidos por ligações β -1,4) ou ramificada como a amilopectina, um dos polímeros constituintes do amido (estrutura linear composta por D-glicoses unidas em α -1,4, fortemente ramificada em pontos α -1,6, a cada 24 a 30 resíduos) (ZHANG; WARDWELL; BADER, 2013).

Os polissacarídeos podem desempenhar uma gama de funções biológicas, tais como armazenar energia (amido e glicogênio), realizar tarefas estruturais (celulose e quitina) e participar da comunicação celular (glicosaminoglicanos, a exemplo do ácido hialurônico) (POSOCCO et al., 2015).

Diversos microrganismos como fungos, bactérias e microalgas são capazes de sintetizar polissacarídeos extracelulares, definidos como exopolissacarídeos (EPSs), os quais estão associados à superfície celular na forma de cápsulas ou são normalmente excretados no ambiente circundante (ABEDFAR; HOSSININEZHAD, 2016). O papel fisiológico dos EPSs microbianos ainda não está completamente compreendido, no entanto, várias funções importantes foram propostas, incluindo proteção contra condições extremas (estresse osmótico, temperatura, pH, danos por luz ultravioleta, metais pesados, oxidantes e dessecação), adesão a superfícies e formação de biofilme, reserva de carbono e armazenamento de água (CAGGIANIELLO; KLEEREBEZEM; SPANO, 2016; FREITAS; TORRES; REIS, 2017; LYNCH et al., 2018).

Os EPSs são polímeros hidrossolúveis, de cadeia longa, com alta massa molar e podem ser iônicos (positivamente ou negativamente carregados) ou não iônicos (SAADAT; KHOSROUSHAHI; GARGARI, 2019; WOLTER et al., 2014). De acordo com a composição química, são classificados em dois grupos distintos: homopolissacarídeos (HoPSs) e heteropolissacarídeos (HePSs).

Os HoPSs são constituídos por apenas um tipo de monossacarídeo (ex. celulose), geralmente glicose ou frutose, sendo classificados como glucanos (ex. dextrana) ou frutanos (ex. levana), respectivamente (MOHAMMED; NAVEED; JOST, 2021). A massa molar dos HoPSs varia entre 5×10^6 a 4×10^7 Da (WOLTER et al., 2014).

Os HePSs são constituídos por mais de um tipo de monossacarídeo (Ex. xantana e pectina), compostos principalmente por repetidas unidades de glicose, galactose e ramnose, em diferentes proporções (ABEDFAR; HOSSININEZHAD, 2016), além de frutose e manose que também podem estar presentes. Alguns são derivados de açúcares como N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, ácido glucurônico ou monossacarídeos substituídos, contendo fosfato, grupos acetil ou glicerol (SAADAT; KHOSROUSHAHI; GARGARI, 2019). Em geral, as unidades repetidas variam, em tamanho, de dissacarídeos a octassacarídeos, compostas de 3 a 8 tipos de monossacarídeos (PRECHTL et al., 2018). A massa molar geralmente varia entre 4×10^4 a 9×10^6 Da (CAGGIANIELLO; KLEEREBEZEM; SPANO, 2016; LYNCH et al., 2018).

Bactérias são capazes de sintetizar esses biopolímeros, basicamente, por meio de duas formas de síntese, de acordo com sua localização intracelular ou extracelular. Predominantemente os HoPSs são sintetizados fora da célula pela ação de enzimas extracelulares pertencentes à família glicosil hidrolase (GH), usando sacarose como doador de glicosil (glicose ou frutose). Os HePSs são produzidos por polimerização de precursores de açúcares nucleotídeos (por exemplo, UDP-glicose e UDP-galactose) que são formados dentro da célula, os quais fornecem formas ativas de monossacarídeos (LYNCH et al., 2018).

No campo de liberação controlada de fármacos os polissacarídeos representam moléculas muito atraentes por várias razões: são biocompatíveis, biodegradáveis e têm baixas taxas de imunogenicidade (POSOTTO et al., 2015), alta flexibilidade permitindo a formação de diversas estruturas supramoleculares (MOHAMMED; NAVEED; JOST, 2021); são susceptíveis a modificações químicas, uma vez que possuem grupos reativos incluindo hidroxilas, amino, acetamido, carboxila e sulfato; podem ser preparados como conjugados ou complexos com proteínas, peptídeos e outras biomacromoléculas (GANGULY et al., 2014); alguns polissacarídeos são mucoadesivos, podendo aumentar a biodisponibilidade do fármaco

no local de absorção (CHEN et al., 2013); a maioria está sujeita à degradação enzimática, o que fornece um mecanismo de liberação em local de interesse (ZHANG; WARDWELL; BADER, 2013); são obtidos a partir de fontes inteiramente renováveis e abundantes na natureza, por processos de baixo custo, de forma bem caracterizada (AHMAD et al., 2019). Essas e outras características dão crédito ao potencial dos polissacarídeos para uso em SLCs, capazes de liberar fármacos complexados em local e momento desejados, em resposta a estímulos fisiológicos específicos (ZHANG; WARDWELL; BADER, 2013).

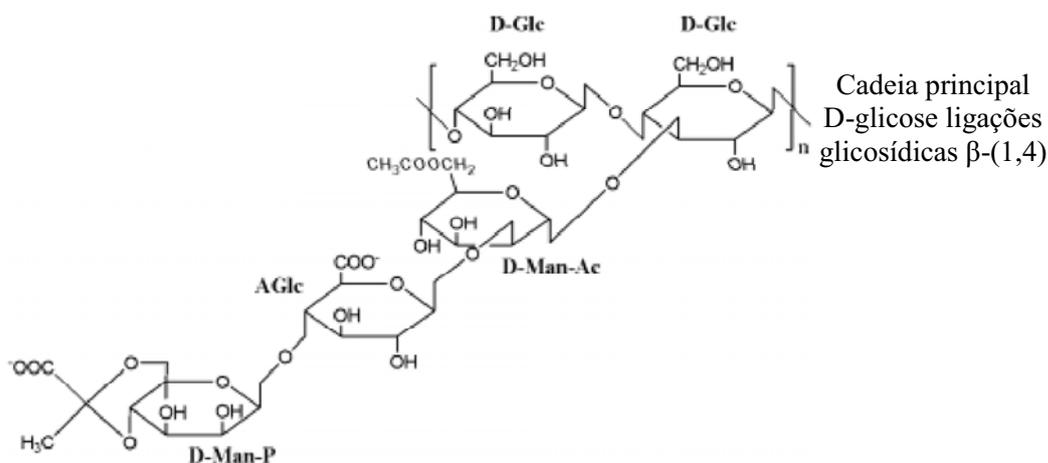
Os EPSs microbianos apresentam algumas vantagens em relação aos biopolímeros produzidos a partir de outras fontes naturais, tais como, o tempo de produção, geralmente mais curto, e sua extração, a qual é mais simples (FREITAS; TORRES; REIS, 2017). A produção desses compostos resulta em um material de fornecimento constante, independente de variações climáticas, uma vez que os processos são realizados em biorreatores, sendo possível utilizar resíduos como matéria-prima (ABEDFAR; HOSSININEZHAD, 2016; DE SOUSA; BRAGA; SOSNIK, 2015). Além disso, esses biopolímeros apresentam maior variedade de estruturas, resultando em propriedades físico-químicas que ampliam sua aplicação biotecnológica, a qual vai desde o uso como biomateriais ou como modificadores de reologia de sistemas aquosos, até agentes terapêuticos (ABEDFAR; HOSSININEZHAD, 2016; FREITAS; TORRES; REIS, 2017).

Apesar do grande número de polissacarídeos bacterianos com propriedades físico-químicas de interesse industrial, a utilização mais ampla desses compostos ainda é restringida devido à manutenção da qualidade do produto que pode ser difícil de ser garantida e mantida, uma vez que as condições de cultivo dos microrganismos interferem diretamente na produção do EPS, além da aceitabilidade regulamentar que pode não ser alcançada (FREITAS et al., 2014). No entanto, existem polímeros oriundos de bactérias Gram-negativas aceitos na biotecnologia moderna, amplamente utilizados como aditivos alimentares e na área farmacêutica, sobretudo a XANT e a gelana (ABEDFAR; HOSSININEZHAD, 2016).

A XANT é um HePS microbiano obtido por fermentação aeróbia de bactérias *Xanthomonas campestris*. É um dos biopolímeros mais importantes na escala industrial, de ampla aplicação em indústrias alimentícias, farmacêuticas, petrolífera, de cosméticos, produtos agrícolas e outros segmentos, como agente dispersante e espessante (OPREA et al., 2013). Nos últimos anos sua produção mundial vem aumentando significativamente (DE SOUSA; BRAGA; SOSNIK, 2015). Seu mercado global foi avaliado em US\$ 0,8 bilhão em 2018 e deve atingir US\$ 1,6 bilhão até 2032, crescendo a um CAGR de 5,9% de 2023 a 2032 (BHAGYASHRI; YERUKOLA, 2023).

A XANT é um copolímero ramificado natural, cuja massa molar é da ordem de 10^5 a 10^6 Da. A molécula de XANT apresenta uma estrutura primária, cuja unidade repetida é um pentassacarídeo constituído por duas unidades de glicose e uma cadeia lateral formada por um trissacarídeo, o qual pode apresentar ácido pirúvico e O-acetil. A cadeia principal se assemelha à da celulose, com as unidades D-glicose (D-Glc) unidas por ligações glicosídicas β -(1,4). As cadeias laterais formadas por uma unidade de ácido D-glucurônico (AGlc) entre duas unidades de D-manose (D-Man), ligam-se na posição O-3 dos resíduos de glicose da cadeia principal, alternadamente. Aproximadamente 50% do total de D-manose terminal contém um resíduo de ácido pirúvico ligado às posições 4 e 6, D-manose-acetil-ester (D-Man-Ac). A unidade D-manose interna pode conter um grupo O-acetil ligado à posição O-6, D-manose-piruvato (D-Man-P) (Figura 2) (GROVES; CHAW, 2015; SETHI et al., 2020).

Figura 2 - Estrutura química de xantana



Fonte: Adaptado de (ALMEIDA et al., 2021).

A XANT, primeiro biopolímero produzido industrialmente, foi descoberta em 1950 por pesquisadores do Northern Regional Research Laboratory (NRRL), do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (EUA). Desde a sua descoberta vem sendo extensivamente estudada devido as suas propriedades emulsificantes, estabilizantes e reológicas, sendo considerada como polissacarídeo microbiano mais significativo, do ponto de vista comercial, a nível mundial. Por ser atóxica e biocompatível, teve o uso aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) nos EUA em 1969. No Brasil, a adição do biopolímero em alimentos é permitida desde 1965, pelo Decreto Lei número 55871, da Legislação Brasileira de Alimentos (MENEZES et al., 2012).

As propriedades de interesse tecnológico da XANT resultam da conformação ordenada que o biopolímero assume em solução. As cadeias laterais se alinham à cadeia principal, estabelecendo ligações de hidrogênio, o que estabiliza a conformação (Figura 3). A estrutura rígida resultante desse alinhamento pode existir na forma de simples, dupla ou tripla hélice, a qual interage com outras moléculas do polímero para formar um complexo (GARCIA-OCHOA et al., 2000). As cadeias laterais proporcionam solubilidade em meio aquoso, além disso, a presença dos ácidos D-glucurônico e pirúvico confere caráter aniônico ao polissacarídeo, potencializando a solubilidade e influenciando a conformação molecular, devido às interações intra e intermoleculares complexas que são estabelecidas graças à presença de cargas ao longo da cadeia (GROVES; CHAW, 2015). Por se mostrar altamente autoassociada em solução, a XANT exibe um comportamento semelhante a um gel, de alta viscosidade, como resultado da formação de uma rede estruturada (EREN; SANTOS; CAMPANELLA, 2015).

Figura 3 - Rede estruturada de xantana



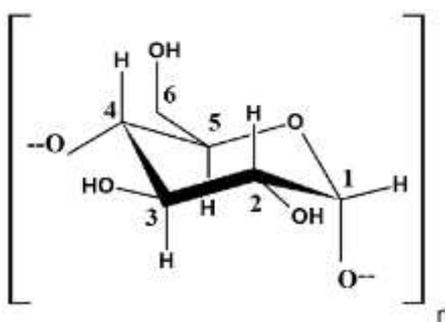
Fonte: (COSTA; PINHO; SANTOS, 2019).

2.3 CICLODEXTRINAS

CDs são oligossacarídeos cíclicos que possuem estrutura rígida e são formadas por seis (α -ciclodextrina), sete (β -ciclodextrina) ou oito (γ -ciclodextrina) unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -(1,4), sendo a β -ciclodextrina a mais acessível, de menor preço e geralmente a mais utilizada, por apresentar afinidade por muitas moléculas hidrofóbicas (SAOKHAM; LOFTSSON, 2017). Em decorrência da disposição espacial de suas unidades glicosídicas (Figura 4), as CDs apresentam a forma de um cone truncado, com uma extremidade mais larga ocupada pelas hidroxilas secundárias, ligadas aos carbonos C-2 e C-3 e uma face mais estreita promovida pela livre rotação das hidroxilas primárias ligadas em

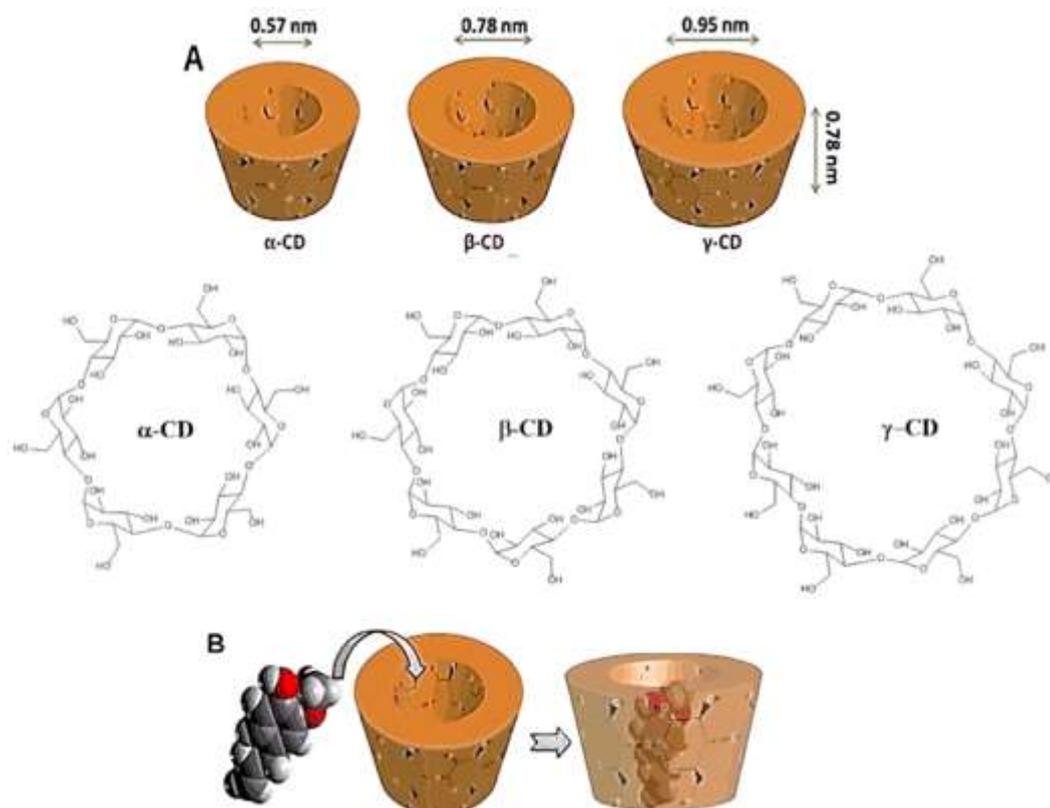
C-6 (Figura 5) (MIRANDA et al., 2020). A variação no número de unidades de glicose determina a dimensão da cavidade de cada CD, conferindo propriedades físico-químicas diferentes (Tabela 1). A superfície externa da CD apresenta caráter hidrofílico, devido à presença de grupos OH livres, enquanto a sua cavidade interna é hidrofóbica devido à presença dos átomos de oxigênio nas ligações glicosídicas e os grupos CH apolares, tornando o seu interior capaz de receber uma infinidade de moléculas hóspedes de baixa polaridade.

Figura 4 - Fórmula estrutural de uma unidade glicosídica de ciclodextrina



Fonte: (AIASSA et al., 2023).

Figura 5 - (A) moléculas de α -, β - e γ -CD (ciclodextrina); (B) Representação do complexo de inclusão de compostos em ciclodextrina



Fonte: (CARNEIRO et al., 2019).

Tabela 1- Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas naturais

Propriedade	α -CD	β -CD	γ -CD
Unidades de glicose	6	7	8
Massa molar (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade em água a 25 °C (% p/v)	14,5	1,85	23,2
Diâmetro externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Altura da estrutura (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume da cavidade (Å)	174	262	427
Valor comercial (R\$)	1.630,00 (25g)	842,00 (25g)	14.598,00 (5g)

Fonte: Adaptado de (DEL VALLE, 2004; SIGMA 2024).

As CDs apresentam aspecto de um pó branco cristalino, higroscópico e homogêneo. Esses compostos foram descobertos por Antoine Villiers em 1891, o qual isolou pela primeira vez oligossacarídeos produzidos de amido ou derivados usando a enzima ciclodextrina

glicosiltransferase. Outra figura importante foi Schardinger, que no início do século 20 isolou e nomeou a cepa, *Bacillus macerans*, responsável pela síntese da CD. Ele realizou uma série de experimentos, ficando conhecido como o fundador da química da CD (KURKOV; LOFTSSON, 2013). Portanto, as CDs já são conhecidas há mais de 120 anos, mas só decolaram, de fato, na década de 1980, mais precisamente a partir de 1984, quando foram produzidas na forma pura e ocorreram as primeiras aplicações nas indústrias farmacêutica e alimentícia (CARNEIRO et al., 2019). A primeira patente relacionada às CDs teve o seu registro realizado em 1953 (JAMBHEKAR; BREEN, 2016).

A característica estrutural das CDs permite a formação de complexos de inclusão, sendo por isso, de grande importância para a química supramolecular (KURKOV; LOFTSSON, 2013). Sistemas supramoleculares podem ser alcançados por interações reversíveis, não covalentes, tais como ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, de dispersão, hidrofóbicas e de van der Waals. Como exemplos desses agregados moleculares, podem ser citados micelas, vesículas, membranas, bicamadas, complexos enzimáticos e muitos tipos de complexos hospede-hospedeiro (DENADAI et al., 2006; FERNÁNDEZ et al., 2019).

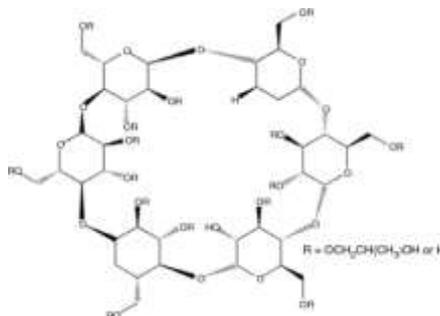
Na indústria farmacêutica, as CDs são amplamente utilizadas na produção de sistemas supramoleculares para modular várias propriedades que afetam o desempenho e os perfis terapêuticos dos medicamentos. Além de aumentar a solubilidade e a dissociação, elas conferem maior estabilidade térmica e química, baixa toxicidade, maior permeabilidade através de membranas biológicas, maior biodisponibilidade, reduz a volatilidade e mascaram sabores e odores desagradáveis da molécula hospede, preservando a natureza de sua composição (REAL et al., 2021; SUÁREZ et al., 2014). As CDs e polímeros de CDs são carreadores capazes de aumentar a biodisponibilidade e outras propriedades de classes variadas de fármacos como, por exemplo, antimicrobianos (SALIH et al., 2020).

Embora as CDs naturais sejam amplamente utilizadas em formulações farmacêuticas, elas apresentam baixa solubilidade, o que representa um obstáculo para a utilização como excipientes. A β -ciclodextrina, por exemplo, é a que apresenta solubilidade aquosa mais reduzida, devido à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre os seus grupos OH secundários que diminuem sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com as moléculas de água circundantes. Para contornar essas limitações, diversos derivados semissintéticos de CDs naturais têm sido produzidos, geralmente por aminação, esterificação ou eterificação de grupos hidroxila primários e secundários.

Descobriu-se que a substituição de qualquer grupo hidroxila, mesmo por grupamento hidrofóbico, resulta em aumento significativo da solubilidade desses compostos. Isso porque, a substituição, mesmo que aleatória promove a quebra do cinturão de ligações de hidrogênio, tornando as hidroxilas remanescentes, disponíveis para formar ligações de hidrogênio com moléculas de água do meio.

Entre os vários grupos de derivados das β CDs, encontra-se o das β CDs hidroxialquiladas, muito utilizado na complexação de fármacos, destacando-se a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP β CD), de elevada solubilidade aquosa, baixa toxicidade, porém, mais higroscópica, a qual passou por extensos estudos de segurança (JAMBHEKAR; BREEN, 2016; JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018). A HP β CD é obtida pela condensação do óxido de propileno com a β CD, ocorrendo a substituição de grupos hidroxila da β CD por grupos 2-hidroxiopropil, o que resulta em um sistema isomérico de alta solubilidade (Figura 6) (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

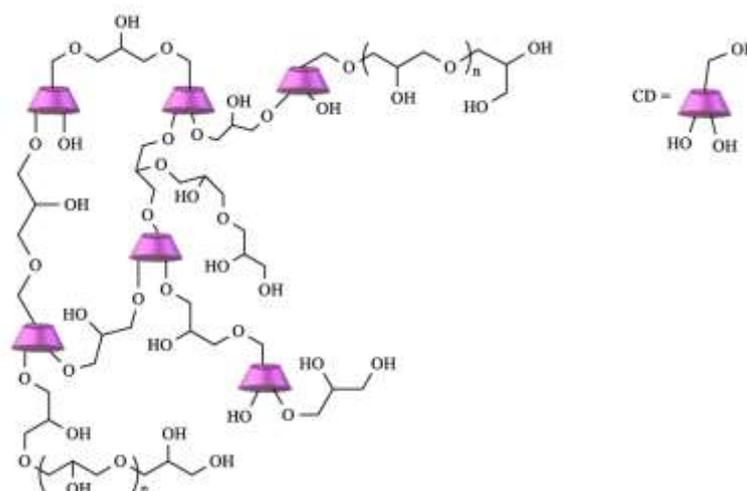
Figura 6 - Estrutura de 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina



Fonte: (D'ARIA; PAGANO; GIANCOLA, 2022).

Ciclodextrinas poliméricas também podem ser produzidas. A polimerização das β CDs pode ser realizada por reações de policondensação de moléculas de β CD com epicloridrina, resultando a poli- β -ciclodextrina (pCD) (Figura 7). Os polímeros de β CD têm sido amplamente empregados em sistemas de liberação de fármacos (SALIH et al., 2020). Os derivados poliméricos de CD combinam as propriedades das CDs e as propriedades dos polímeros (alto peso molecular e maior solubilidade) (HEYDARI et al., 2017). Isso evidencia a grande vantagem das pCDs em relação às CDs naturais, uma vez que a polimerização permite ampliar a sua capacidade de inclusão (GIDWANI; VYAS, 2014).

Figura 7 – Estrutura da poli-β-ciclodextrina



Fonte: (COVA et al., 2021).

2.4 MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

2.4.1 *Streptococcus mutans*

S. mutans é um patógeno gram-positivo anaeróbio facultativo, que reside principalmente em biofilmes que se formam nas superfícies dos dentes (FOLLIERO et al., 2022; LEMOS et al., 2019). Trata-se de uma matriz compacta que protege as bactérias subjacentes da ação de antimicrobianos e dos mecanismos de defesa do hospedeiro, sendo extremamente difícil a sua remoção mecânica (ROKAYA et al., 2018; STERZENBACH et al., 2020; ZHENG et al., 2021).

A formação do biofilme é modulada por vários fatores externos, como a duração da exposição das bactérias às superfícies, a população de bactérias inoculadas, as características bacterianas (por exemplo, componentes da parede celular, apêndices e motilidade) e as propriedades do meio. As propriedades superficiais do substrato, como densidade de carga, molhabilidade, rugosidade, rigidez e topografia também são consideradas fatores que afetam a adesão bacteriana inicial às superfícies (ABBASI MOUD, 2022; ZHENG et al., 2021).

As bactérias que vivem em biofilme contribuem muito para o surgimento da resistência aos antimicrobianos. Isso porque as substâncias poliméricas extracelulares nos biofilmes dificultam a penetração do fármaco em seu interior; as bactérias neles incorporadas apresentam crescimento lento, reduzindo a absorção de nutrientes, assim como a absorção de

antimicrobianos. Além disso, enzimas secretadas por essas bactérias podem hidrolisar e desativar os antimicrobianos (LIU; LI; SHI, 2021).

Apesar do desenvolvimento de várias ações dos programas de educação em higiene e saúde bucal, a cárie dentária continua sendo uma doença prevalente que representa um importante problema de saúde pública. A cárie é uma doença multifatorial que envolve vários fatores do hospedeiro, como dieta, higiene e microbiota. A redução da população de *S. mutans* na cavidade oral continua sendo o principal alvo na investigação que visa reduzir ou eliminar a doença (BAKER; FAUSTOFERRI; QUIVEY JR, 2017).

S. mutans também é responsável por casos de endocardite infecciosa, uma inflamação das válvulas cardíacas que pode levar à morte. Além disso, juntamente com um subconjunto de cepas, está indiretamente associado ao aparecimento de patologias extraorais como micro-hemorragias cerebrais, aterosclerose e nefropatia por IgA, caracterizada pelo depósito de anticorpos (imunoglobulina A) nos glomérulos (LEMOS et al., 2019).

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus, uma bactéria gram-positiva, embora constituinte da microbiota humana normal, é uma das principais causas de uma variedade de infecções clínicas tais como, bacteremia, endocardite, meningite, osteoarticulares, de pele e tecidos moles, pulmonares e relacionadas a dispositivos invasivos como cateteres vasculares. Indivíduos imunocomprometidos, incluindo pessoas com diabetes descompensado, HIV não tratado, sobrecarga de ferro e disfunção de neutrófilos, são mais suscetíveis às infecções invasivas, comumente adquiridas em ambientes hospitalares e também na comunidade, mas a bactéria pode também se disseminar entre os indivíduos saudáveis (TONG et al., 2015).

Nas últimas décadas, em decorrência do uso generalizado de antimicrobianos, *S. aureus* passou por várias ondas de resistência, nas quais se destaca o MRSA, e atualmente exhibe ampla resistência a toda a classe de antimicrobianos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos). Até mesmo em relação aos antimicrobianos alternativos, especialmente à vancomicina, o surgimento de *S. aureus* resistentes vem aumentando (ZHANG et al., 2017). A resistência aos antimicrobianos é frequentemente adquirida pela transferência horizontal de material genético de outras bactérias e por mutação genética aleatória e seleção natural, decorrida do mau uso de antimicrobianos (GUO et al., 2020).

A resistência aos antimicrobianos é um dos maiores desafios para a saúde pública atualmente. Infecções causadas por linhagens de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos atingiram proporções epidêmicas de forma global. Indiscutivelmente, todos esses fatos evidenciam a necessidade urgente de desenvolver novas estratégias para melhorar a eficácia dos antimicrobianos, dada a sua importância crucial como agentes terapêuticos para o tratamento e prevenção de infecções.

2.5 CLORETO DE CETILPIRIDÍNIO

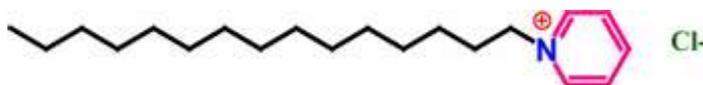
O CCP é um composto de amônio quaternário, catiônico, que apresenta atividade antimicrobiana contra um amplo espectro de bactérias, incluindo *S. aureus* e *S. mutans*, utilizado como colutório nos EUA há mais de 70 anos. Os compostos de amônio quaternário são utilizados para uma variedade de propósitos clínicos (por exemplo, desinfecção pré-operatória de pele íntegra, aplicação em mucosas e desinfecção de superfícies não críticas). Por apresentarem propriedades antimicrobianas, esses compostos também são excelentes desinfetantes e antissépticos. A baixa toxicidade e odor permitem que sejam utilizados por diversos setores da indústria, inclusive de alimentos e em ambientes residenciais (MIRANDA et al., 2020).

O CCP, agente mais conhecido da categoria dos compostos de amônio quaternário, é um surfactante, portanto, apresenta duas regiões em suas estruturas moleculares, uma constituída por uma cadeia hidrocarbônica (hidrofóbica) e a outra por um grupamento hidrofílico, com afinidade pela água (Figura 8). Esse caráter anfifílico confere aos surfactantes a capacidade de interagir simultaneamente com substâncias polares e apolares e se auto-organizarem em micelas, vesículas e bicamadas (KARAYIL et al., 2016). Essa associação de moléculas ocorre para proteger a porção hidrofóbica do meio aquoso, ao mesmo tempo em que expõe a porção polar hidrofílica à água. Em vista disso, os surfactantes são capazes de reduzir a tensão superficial entre as fases líquido-líquido, líquido-sólido e líquido-gás e possibilitar a dissolução de substâncias hidrofóbicas como corantes, polímeros e óleos (ALVES et al., 2014). Os surfactantes são considerados hóspedes ideais, sendo amplamente estudada a sua interação com o hospedeiro CD (BENKO; KIRÁLY, 2012).

Por ser catiônico, o CCP pode interagir com a membrana celular bacteriana através de interações eletrostáticas, devido à presença de fosfolípidios carregados negativamente, resultando em desorganização da membrana plasmática, vazamento de componentes

celulares, perturbação do metabolismo celular, inibição do crescimento celular e consequente morte celular (ALVES et al., 2014; DE AQUINO et al., 2023; YEON; YOUNG, 2019).

Figura 8 - Estrutura química do cloreto de cetilpiridínio



Fonte: (KARAYIL et al., 2016).

Nos últimos anos novas tecnologias têm surgido para a liberação controlada de CCP, visando manter a sua concentração em local desejado e por maior período de tempo. Além de alcançar maior estabilidade nos fluidos biológicos e durante o armazenamento.

Mirtic e colaboradores (2016) desenvolveram e caracterizaram nanopartículas de alginato, carregadas com CCP, capazes de realizar uma liberação local e prolongada do fármaco ideal para serem administradas em bolsa periodontal, com perspectivas de melhorar a sua eficácia terapêutica.

Alam et al. (2021) mostraram que o CCP pode ser encapsulado em coacervados polieletrólitos e liberado em escalas de tempo de vários meses, sugerindo a possibilidade de utilização desses sistemas para a liberação sustentada de baixas doses de surfactantes catiônicos em diversas aplicações, tais como limpeza e desinfecção de superfícies e melhoria das propriedades humectantes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar a complexação do antimicrobiano CCP em XANT, HP β CD e pCD, respectivamente, para posterior liberação controlada do fármaco com a finalidade de melhorar a sua ação antimicrobiana.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar o complexo de CCP em XANT (CCP/XANT) na proporção 1 mmol/g, que corresponde a 0,3399 g de CCP para cada 1 g de XANT;
- Preparar os CIs do CCP em HP β CD nas proporções molares de 1:1 (CCP/HP β CD₁) e 1:2 (CCP/HP β CD₂); bem como os CIs de CCP em pCD também nas proporções molares de 1:1 (CCP/pCD₁) e 1:2 (CCP/pCD₂);
- Caracterizar a formação dos complexos, em fase sólida, por meio de análise térmica e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR);
- Avaliar o efeito da complexação com CCP no tamanho de partículas (diâmetro hidrodinâmico, D_h) das moléculas/agregados de XANT, HP β CD e pCD, em solução aquosa por espalhamento de luz dinâmico (DLS);
- Avaliar o efeito da complexação com CCP no potencial zeta (ZP) das moléculas/agregados de XANT, HP β CD e pCD, em solução aquosa;
- Analisar o comportamento reológico estacionário das soluções macromoleculares de XANT pura e do complexo CCP/XANT através da identificação do tipo de fluido, construindo curvas de fluxo e de viscosidade;
- Avaliar alterações nas propriedades termodinâmicas em decorrência da complexação do CCP com XANT, HP β CD e pCD por calorimetria de titulação isotérmica (ITC);
- Avaliar a ação antimicrobiana dos complexos CCP/XANT e CCP/ β CDs nas proporções molares 1:1 e 1:2 (CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂) frente quatro linhagens de *S. aureus* e uma linhagem de *S. mutans*, comparando-se com o CCP puro.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS E REAGENTES UTILIZADOS

- Água reagente Tipo I (Merck Millipore), obtida imediatamente antes de seu uso, em processo de filtração;
- HP β CD (Sigma aldrich);
- pCD (sintetizada em laboratório por reação de polimerização da β CD, na presença do vinculador químico, policloridrina);
- Xantana (Sigma aldrich);
- Cloreto de cetilpiridínio (Dinâmica);
- Solução salina;
- Caldo Ágar Mueller Hinton (IONLAB Equipamentos para Laboratórios e Hospitais LTDA);
- Solvente dimetilsulfóxido (DMSO) (Bio Scie indústria e comércio LTDA);
- 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5-difenil brometo de tetrazolium (MTT) (Sigma aldrich);
- Metanol (Sciavico comércio e indústria LTDA);
- Violeta cristal (Êxodo científica);
- Ácido acético glacial (Sciavico comércio e indústria LTDA);
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 29923), (170), (15) e (1369061).
- *Streptococcus mutans* (UA 159).

4.2 SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DA pCD

A pCD foi sintetizada por reação de polimerização da β CD com a epicloridrina, em meio básico ($[\text{NaOH}] = 5 \text{ M}$) sob agitação (1000 s^{-1}) e temperatura ($40 \text{ }^\circ\text{C}$) controladas no copo metálico do Reômetro Dinâmico Híbrido DHR1, o qual foi utilizado como reator.

Após a síntese, a pCD foi purificada por precipitação em acetona. O sólido obtido foi seco, redissolvido em água, neutralizado com HCl até $\text{pH} \approx 7$ e novamente precipitado em acetona (RENARD et al., 1997).

4.3 PREPARO DOS COMPLEXOS E MISTURAS MECÂNICAS

4.3.1 Preparo do complexo CCP com XANT e dos complexos de inclusão de CCP em ciclodextrinas e respectivas misturas mecânicas

Utilizando água ultrapura, foram preparados 10 mL de solução do complexo CCP/XANT, na proporção de 10^{-3} mol de CCP para cada 1 g de XANT. Após o preparo, a solução foi acondicionada em um tubo Falcon de 15 mL e submetida à agitação, para melhor solubilização, e em seguida, congelada.

Para efeito de comparação nas análises no estado sólido, a mistura mecânica (MM) de XANT com CCP também foi preparada na mesma proporção (10^{-3} mol/g), sendo homogeneizada mecanicamente e acondicionada em microtubo.

Os complexos de inclusão de CCP em CDs foram preparados em duas proporções molares, sendo elas 1:1 e 1:2, originando 4 amostras diferentes: CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂, conforme a (Tabela 2). Para tanto, em béqueres separados, foram preparadas soluções de HP β CD a 100 mM e CCP a 50 mM.

Tabela 2- Preparo de soluções de CCP em HP β CD e em pCD nas proporções 1:1 e 1:2

	5 mL HP β CD (100 mM)	10 mL HP β CD (100 mM)	5 mL pCD (100 mM)	10 mL pCD (100 mM)
10 mL CCP (50 mM)	CCP/HP β CD ₁ (1:1)	CCP/HP β CD ₂ (1:2)	CCP/pCD ₁ (1:1)	CCP/pCD ₂ (1:2)

Fonte: a autora (2023).

As substâncias foram dissolvidas em água ultrapura, separadamente, em seguida, foram misturadas, de modo a se obter as proporções desejadas e congeladas. As misturas mecânicas (MMs) do CCP em HP β CD e em pCD foram preparadas também nas proporções 1:1 e 1:2, sendo homogeneizadas mecanicamente.

Todos os complexos foram liofilizados, depois de congelados (Figura 9). Os sólidos obtidos foram submetidos à caracterização por espectroscopia FTIR e análises térmicas.

Figura 9 - Liofilizador SL- 404 Solab



Fonte: a autora (2023).

4.4 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

4.4.1 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

Os espectros na região do infravermelho médio (4000 a 500 cm^{-1}) dos compostos puros e dos complexos CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁, CCP/pCD₂, CCP/XANT e suas respectivas MMs foram obtidos em equipamento de infravermelho da Perkin Elmer, por transformada de Fourier, modelo Spectrum Two TM (Figura 10).

A FTIR é uma técnica útil para identificar as interações químicas predominantes em cada estrutura. O método é essencial para avaliar o efeito da interação entre o fármaco e os compostos estudados. Os espectros foram obtidos em acessório de refletância total atenuada (ATR.) da marca PIKE acoplado ao espectrômetro. Após a aplicação direta dos precursores puros, dos complexos ou das MMs sobre a superfície de diamante do módulo ATR, os espectros foram obtidos como a média de 16 varreduras consecutivas, com resolução de 2 cm^{-1} . Para a aquisição dos espectros foi utilizado o programa Perkin Elmer Spectrum ES (versão do aplicativo: 10.03.08.0133). Os dados foram exportados para o Microcal Origin® 9.0 para edição.

Figura 10 – Espectrômetro FTIR Perkin Elmer

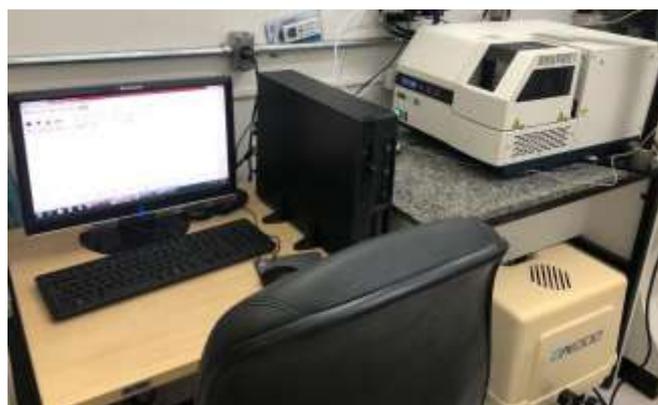


Fonte: a autora (2023).

4.4.2 Análises térmicas (curvas TGA e DTA)

O comportamento térmico das amostras puras e dos complexos CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁, CCP/pCD₂, CCP/XANT e suas respectivas MMs foi avaliado por análise termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA). Foi utilizado um módulo DTA/TGA, STA7200RV da HITACHI (Figura 11). As condições de análises foram: atmosfera de ar, a 300,0 mL/min, com rampa de temperatura de 30 a 900 °C e uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e massa aproximada de 3,0 mg do analito em cadinho de platina. Como referência foi utilizado o cadinho de platina vazio.

Figura 11 - Equipamento da HITACHI utilizado para as análises térmicas



Fonte: a autora (2023).

4.4.3 Caracterização coloidal dos sistemas CCP/XANT, CCP/HP β CD e CCP/pCD

4.4.3.1 Sistema CCP/XANT

A avaliação da interação do CCP com a XANT, do ponto de vista coloidal, foi realizada através da medida de tamanho de partículas em solução aquosa (diâmetro hidrodinâmico, D_h) por espalhamento de luz dinâmico (DLS) e do potencial zeta (ZP) da XANT em concentrações crescentes de CCP.

Os experimentos foram realizados no módulo fotométrico de DLS, Zeta Sizer NanoZS90 da Malvern (Figura 12), a 25 °C, com termostatização via sistema Peltier, após 30s de equilíbrio térmico. A amostra contendo a suspensão de XANT a 1,0 mg/mL foi inserida em cubeta de polietileno de 1 cm de caminho óptico, padrão Malvern, e submetidas a um feixe de luz monocromático (Laser He-Ne de 4 mW e comprimento de onda de 633 nm), com intensidade de luz espalhada medida a um ângulo de 90°. O D_h foi determinado pela média de cinco medidas independentes, cada uma delas obtida a partir da média de 5 contagens. Para o experimento, foi preparada solução aquosa de CCP a 20,0 mM. Foram realizadas 50 injeções de 5,0 μ L desta solução em 1,5 mL de suspensão de XANT. O tratamento dos dados foi executado com o auxílio do programa Microcal Origin® 9.0.

Figura 12 - ZetaSizer Nano ZS90



Fonte: a autora (2023).

Na determinação do ZP, as amostras foram preparadas de forma similar às utilizadas no experimento de D_h . A suspensão de XANT foi vertida em uma cubeta de vidro na qual é imersa a célula de medida (*Dip Cell*) e avaliada pelo módulo “ZetaSizer Nano ZS90” por meio de microeletroforese laser-doppler (MELD), a um ângulo de espalhamento de luz a 173° e DDP alternado 10 V, a partir dos valores de mobilidade eletroforética, calculados pelo modelo de Smoluchowski. Foram realizadas 50 injeções de 10 μ L da solução de CCP a 20,0 mM em 3,0 mL de suspensão de XANT a 1,0 mg/mL. As medidas foram iniciadas antes da primeira titulação e sequencialmente ao longo das 50 titulações. O ZP foi calculado pela média de 5 medidas independentes, cada uma delas obtida a partir da média de 5 contagens e o tratamento dos dados foi executado com o auxílio do programa Microcal Origin® 9.0.

4.4.3.2 Sistemas CCP/HP β CD e CCP/pCD

A formação dos complexos CCP/HP β CD e CCP/pCD também foi monitorada através de medidas do diâmetro hidrodinâmico (D_h) e do potencial zeta (ZP) das partículas, utilizando o mesmo equipamento, as mesmas cubetas e as mesmas configurações empregadas para os experimentos descritos acima. O D_h e o ZP foram calculados pela média de 5 medidas independentes, cada uma delas obtida a partir da média de 5 contagens. O tratamento dos dados obtidos foi executado com o auxílio do programa Microcal Origin® 9.0.

Para as medidas de D_h de ambos os complexos foi preparada uma solução de CCP a 2 mM, da qual foram inseridos 3 mL na cubeta de polietileno e realizada a primeira medida. Em seguida, foram realizadas novas medidas ao longo de 50 injeções de 10 μ L de solução de HP β CD ou de pCD, a 30 mM, de acordo com o sistema que estava sendo estudado.

Da mesma forma, para as medidas de ZP, foram realizadas 50 injeções de 10 μ L de solução (HP β CD ou pCD) a 30 mM em 3 mL de solução de CCP a 2 mM. As medidas foram iniciadas antes da primeira titulação e sequencialmente ao longo das 50 titulações.

4.4.4 Titulações por calorimetria de titulação isotérmica

A calorimetria de titulação isotérmica (ITC) em um Microcalorímetro VP-ITC da Microcal (Figura 13), foi utilizada para obtenção dos parâmetros termodinâmicos de interação dos sistemas CCP/HP β CD, CCP/pCD e CCP/XANT. Em todas as análises a primeira injeção de 1,0 μ L foi descartada a fim de eliminar os efeitos de difusão de material da seringa para a cela e vice-versa. Após os experimentos, as curvas de titulação foram subtraídas dos respectivos brancos a fim de se eliminar matematicamente os efeitos de interação dos compostos com o solvente. Os experimentos foram realizados em duplicata e os dados tratados com o auxílio do programa Microcal Origin® 9.0. Os parâmetros experimentais utilizados estão elucidados abaixo para os respectivos sistemas.

Para o sistema CCP/XANT foram feitas 51 injeções automáticas, sendo a primeira de 1,0 μ L e as demais de 5 μ L de titulante (solução aquosa de CCP a 20,0 mM) em 1,5 mL do titulado (solução aquosa de XANT a 1,0 mg/mL) à temperatura de 25 °C.

Para ambos os sistemas CCP/HP β CD e CCP/pCD foram realizadas 51 injeções automáticas, da mesma forma, a primeira de 1,0 μ L e as demais de 5 μ L de titulante (solução

aquosa de HP β CD ou pCD a 15 mM) em 1,5 mL do titulado (solução aquosa de CCP a 1 mM) à temperatura de 25 °C.

Figura 13 - Calorímetro de titulação isotérmica e itens anexos



Fonte: a autora (2023).

4.4.5 Determinação dos parâmetros reológicos do complexo CCP/XANT

Os parâmetros reológicos da solução do complexo CCP/XANT foram determinados utilizando um reômetro rotacional estacionário de taxa de tensão controlada DHR-1 da T.A. Instrumentes® (Figura 14), através do sistema de temperatura do cilindro concêntrico Peltier, Norma DIN, que consistia em um copo ($d = 15,0$ mm, $V = 25,0$ mL) e bob ($d = 14,0$ mm, $h = 42,0$ mm).

Inicialmente, foram inseridos 15,0 mL de solução de XANT (1,0 mg/mL) no copo do reômetro e sujeito a um corte constante a 1000 s⁻¹. Em seguida, foi titulado manualmente com 51 alíquotas de 50 μ L de solução aquosa de CCP a 20,0 mM, com medição da viscosidade em tempo real.

Curvas de fluxo e de viscosidade do sistema CCP/XANT a 25 °C e taxas de cisalhamento entre 1 a 500 s⁻¹ e de 500 a 1 s⁻¹, foram construídas comparando o comportamento reológico durante as seguintes injeções: de 0 a 10, de 10 a 30 e de 30 a 50.

A suspensão obtida ao final das 50 titulações (complexo CCP/XANT na razão 3,35 mM/mg) foi submetida a cisalhamento estacionário em função da taxa de cisalhamento para a construção das curvas de fluxo e viscosidade, a 25 °C e taxas de cisalhamento entre 1 a 500 s⁻¹ e de 500 a 1 s⁻¹.

Os dados dos ensaios foram tratados usando o software TRIOS e, posteriormente, exportados para o programa Microcal Origin® 9.0.

Figura 14 - Reômetro dinâmico híbrido DHR-1 da T. A. instruments®



Fonte: a autora (2023).

4.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.5.1 Microrganismos utilizados

Foi utilizada uma linhagem de *S. mutans* denominada UA 159 e quatro linhagens de *S. aureus*: uma linhagem padrão (ATCC 29923) e três linhagens clínicas denominadas 170, 15 e 1369061, às quais estavam armazenadas em ágar Muller Hinton (MH)), em geladeira, pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares, onde os ensaios foram realizados.

4.5.2 Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana

Os testes para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da dose letal mediana (DL_{50}) foram realizados em placas de microdiluição de 96 poços, empregando o método de diluição seriada em caldo para as soluções de CCP, do complexo CCP/XANT e dos quatro CIs liofilizados (CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁, CCP/pCD₂), conforme teste padrão de susceptibilidade antimicrobiana do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2023), com modificações. Primeiramente se preparou a solução CCP (1000 μ g/mL), a qual foi filtrada em filtro de seringa de 0,22 μ m. Em seguida foi realizada a diluição seriada 1:2 dessa solução em caldo MH se obtendo concentrações que variaram de 500 a 1 μ g/mL.

Foram preparados 10 mL de solução de CCP/XANT utilizando água ultrapura, tubo e espátulas estéreis, uma vez que não foi possível filtrar esta solução pelo fato de ser muito viscosa. Foi adotada a proporção de 1 mmol de CCP para 1 g de XANT, a qual foi obtida

através de análises de interação nos experimentos de titulação. Sequencialmente, com o auxílio de um agitador para tubos, prosseguiu-se até a completa solubilização da XANT. O meio de cultura e os procedimentos de diluições foram os mesmos utilizados para o CCP puro, descrito no parágrafo anterior.

Para o preparo das soluções dos CIs de CCP com as CDs, cada complexo foi pesado empregando um valor de massa correspondente à massa nominal de CCP na solução final preparada com o CCP puro, visando fixar a concentração molar do composto, deixando como variável a ausência ou presença de CDs. Foram pesados, respectivamente, 49 mg (CCP/HP β CD₁), 88,1 mg (CCP/HP β CD₂), 41,7 mg (CCP/pCD₁) e 73,3 mg (CCP/pCD₂), em seguida, dissolvidos em 10 mL de água, separadamente. Os diluentes, meio de cultura, procedimentos de preparo e diluições foram os mesmos utilizados para o CCP puro.

O ensaio foi realizado em duplicata para cada linhagem. Foram transferidos 100 μ L das diversas diluições do fármaco puro ou complexado para os poços correspondentes, previamente identificados, em ordem decrescente de concentração.

Para o preparo do inóculo bacteriano, as linhagens foram reativadas 24 h antes da execução dos experimentos e mantidas em estufa a 37 °C. As suspensões microbianas foram preparadas em solução salina 0,9% estéril até a obtenção de uma turvação equivalente à escala 0,5 de MacFarland, correspondendo a $1,5 \times 10^8$ bactérias/mL. Em seguida essa suspensão foi diluída 1:10 (ou seja, $1,5 \times 10^7$ UFC/mL) em caldo MH estéril e adicionada 5 μ L a cada poço correspondente nas placas de microdiluição.

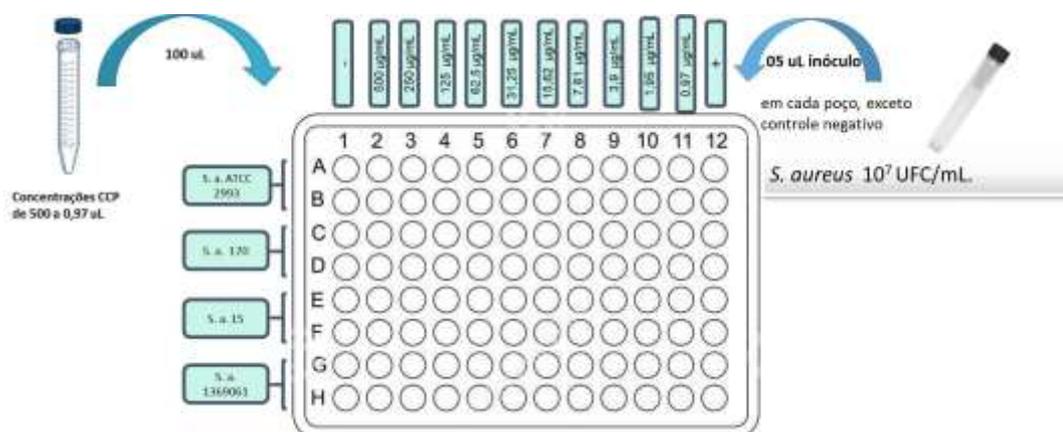
Para *S. aureus*, foi utilizada uma placa para cada composto, totalizando 6 placas. Em cada placa, as fileiras A e B foram destinadas à linhagem ATCC 29923, C e D à linhagem 170, E e F à linhagem 15 e G e H à linhagem 1369061 (Figura 15). Como controle de crescimento foi adicionado o inóculo mais o meio MH, sem adição do fármaco. Para o controle de esterilidade foi utilizado apenas o meio MH. Já para a linhagem de *S. mutans*, foram utilizadas 2 placas, onde cada uma delas recebeu as diluições de 3 compostos, também em duplicata.

As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. A leitura foi realizada após a adição do corante 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5-difenil brometo de tetrazolium (MTT), com proteção de exposição direta à luz. Foi adicionado 20 μ L de MTT, Sigma a 2,5 mg por mL de PBS (*phosphate buffered saline* ou tampão fosfato-salino) a cada poço para determinar a inibição de crescimento, deixando, em seguida, a placa incubada a 37 °C, envolvida em papel alumínio. Decorridas 2 horas foi adicionado a cada poço 100 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) e realizada a leitura em leitor de microplacas Thermo Scientific Multiskan Sky, a 570 nm.

Quando a leitura das placas é realizada de forma visual, normalmente, considera-se CIM a menor concentração capaz de inibir 100% do crescimento microbiano, em comparação com o controle negativo. Neste trabalho, visto que foi empregado um leitor de microplacas, a CIM foi considerada a menor concentração capaz de inibir de 90% a 100% do crescimento microbiano. Celenza e colaboradores (2012), ao testarem um composto natural isolado de líquens, puro ou combinado com quimioterápicos, contra MRSA consideraram e definiram CIM₉₀ como a CIM na qual 90% dos microrganismos foram inibidos. Recentemente, Folliero et al. (2022) também adotaram a determinação da CIM₉₀ ao avaliar as propriedades antimicrobianas de um composto natural contra infecções causadas por *S. mutans*.

A DL_{50} foi considerada a menor concentração que inibiu 50% da atividade metabólica microbiana em comparação com o controle positivo. A atividade metabólica foi calculada pela absorbância de cada teste x 100/média da absorbância do controle positivo.

Figura 15 - Representação esquemática. Placa de microdiluição de concentração inibitória mínima e de dose letal mediana de CCP puro



Fonte: a autora (2023).

4.5.3 Inibição/estimulação da adesão de *S. mutans*

A capacidade de CCP/XANT, CCP/HPβCD₁, CCP/HPβCD₂, CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂ de inibir a adesão de *S. mutans* foi testada com a utilização de microplacas de 96 poços. A quantificação da biomassa total bacteriana na presença da concentração equivalente à CIM e concentrações subinibitórias de CCP foi avaliada pela coloração com cristal violeta, corante capaz de corar tanto as células bacterianas quanto a matriz extracelular.

A quantificação da inibição/estimulação da adesão da linhagem UA 159 de *S. mutans* foi realizada por teste de microplaca de 96 poços para quantificação da formação de biofilme,

com modificações, realizadas por (PIERI et al., 2016). Foi utilizada a CIM encontrada para o CCP e a partir desta, cinco diluições seriadas descendentes de base logarítmica 2 (concentrações finais). A linhagem foi reativada em agar MH, incubada a 37 °C por 24 h e depois ajustada para escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$). Foram transferidos 70 µL de cada composto, nas seis concentrações, e 230 µL do inóculo aos poços correspondentes, em triplicata. O controle positivo de aderência bacteriana consistiu na adição de 230 µL de cultura bacteriana ajustada e 70 µL de caldo MH estéril, e o controle negativo foi preparado com 300 µL de caldo MH. As placas foram incubadas a 37 °C, em anaerobiose, por 24 h. Após esse período, o conteúdo foi aspirado das placas com o auxílio de uma pipeta multicanal e as mesmas foram lavadas três vezes com água destilada para retirada de bactérias não aderidas. Em seguida, foram adicionados 250 µL de metanol a cada poço e a placa foi deixada em repouso por 15 min. O metanol foi descartado e a placa foi seca por 2 min em fluxo laminar. Após isso foi realizada a coloração com cristal violeta, capaz de corar tanto as células bacterianas quanto a matriz extracelular. Paratanto adicionou-se 250 µL do corante a 1% em cada poço, por 10 min, o qual foi removido da placa com água da torneira. Em seguida foram adicionados 250 µL de ácido acético glacial a 33%. A densidade óptica de cada poço foi medida em leitor de microplacas Thermo Scientific Multiskan Sky, a 570 nm. A inibição foi calculada pela absorvância de cada teste x 100/média da absorvância do controle positivo. Os dados foram exportados para o software estatístico Prism 5 (GraphPad Software Inc., La Jolla-CA, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

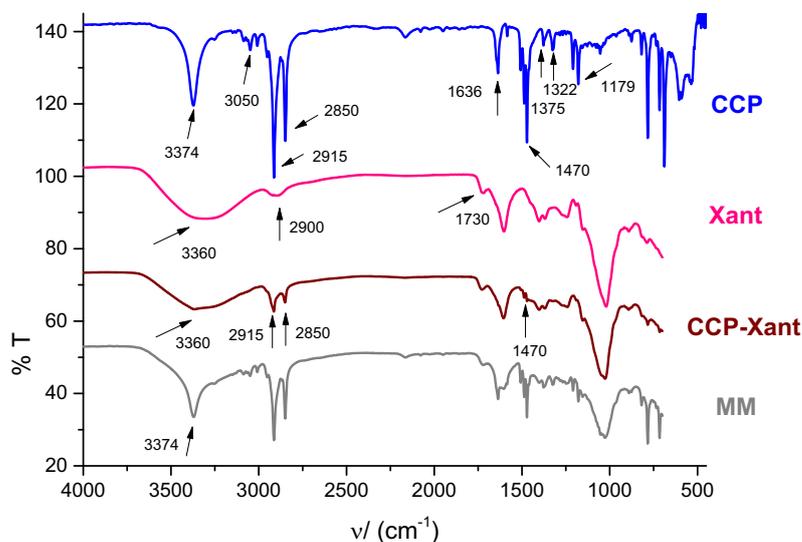
5.1 CARACTERIZAÇÕES DOS COMPLEXOS

5.1.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

A composição de uma amostra pode ser identificada pela presença de bandas referentes a vibrações específicas que são características de diferentes grupos funcionais, utilizando FTIR (FARIAS et al., 2019). Além disso, as interações intermoleculares levam a alterações no momento de dipolo das ligações ou dos grupos funcionais destas moléculas, alterando consequentemente o estado de vibração de cada ligação química. Por essa razão, a espectroscopia na região do infravermelho é uma ferramenta importante para a caracterização de complexos supramoleculares e para a detecção de interações intermoleculares em moléculas de surfactantes, devido ao fato de que elas podem refletir no aumento, redução ou deslocamento das bandas nos espectros de FTIR no estado sólido (DENADAI et al., 2006).

Neste trabalho, as interações entre o CCP e a XANT e entre o CCP e as CDs foram identificadas através da comparação dos espectros de FTIR, na região de 4000 a 500 cm^{-1} , das moléculas puras, das misturas mecânicas e dos complexos. Na Figura 16 estão apresentados os espectros de infravermelho do CCP, XANT, CCP/XANT e MM.

Figura 16 - Espectros na região do infravermelho do CCP, XANT, CCP/XANT e MM



Fonte: a autora (2023).

No espectro do CCP a banda em torno de 3374 cm^{-1} se refere ao estiramento das ligações O-H associadas à molécula de água, pelo fato do CCP ser um composto monoidratado (KARIKALAN; PANNEERSELVAM; VALLALPERUMAN, 2018). A banda em 3050 cm^{-1} caracteriza o estiramento de C-H de aromáticos. As bandas em 2915 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} se referem aos estiramentos das ligações C-H de alcanos. A banda observada em 1636 cm^{-1} corresponde às ligações C=C do anel aromático (MIRANDA, 2020). As bandas em torno de 1470 cm^{-1} e 1375 cm^{-1} são associadas à deformação do grupo CH_2 e CH_3 de alcanos, respectivamente. As bandas na região de 1179 cm^{-1} a 1322 cm^{-1} são compatíveis com vibrações de estiramento N-C do anel piridínio (DE AQUINO et al., 2023).

No espectro da XANT a banda larga na região 3360 cm^{-1} está relacionada ao estiramento de O-H, característico dos carboidratos (ZHANG et al., 2019). A banda em torno de 2900 cm^{-1} é devido ao estiramento do grupo C-H (HASHEMI; AMINLARI; MOOSAVINASAB, 2014). A banda 1730 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo carbonila C=O de éster e ao grupo -COOH do ácido glucurônico. A banda em torno de 1024 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de C-O (MISRA et al., 2018).

O espectro de CCP/XANT foi mais próximo ao perfil observado para a XANT pura, contudo, foram apresentadas várias mudanças em relação aos precursores, sugerindo a formação do complexo. As alterações mais significativas foram: aparecimento das bandas em torno de 1470 cm^{-1} , 2915 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} atribuídas à presença de grupos de alcanos e o desaparecimento da banda 3374 cm^{-1} , associada às moléculas de água, além das bandas 1322 cm^{-1} e 1179 cm^{-1} , referentes ao CCP puro. O desaparecimento das referidas bandas pode ser justificado pela interação com o grupo O-H da molécula de XANT.

Na MM as mudanças foram menos evidentes nas regiões das bandas características do CCP e da XANT puros (Tabela 3), sendo que o seu perfil é o resultado da sobreposição das bandas dos dois compostos. O que pode ser notado, inclusive, com a permanência da banda em torno de 3374 cm^{-1} .

Tabela 3 - Principais bandas (cm^{-1}) observadas nos espectros de infravermelho de CCP, XANT, MM e CCP/XANT

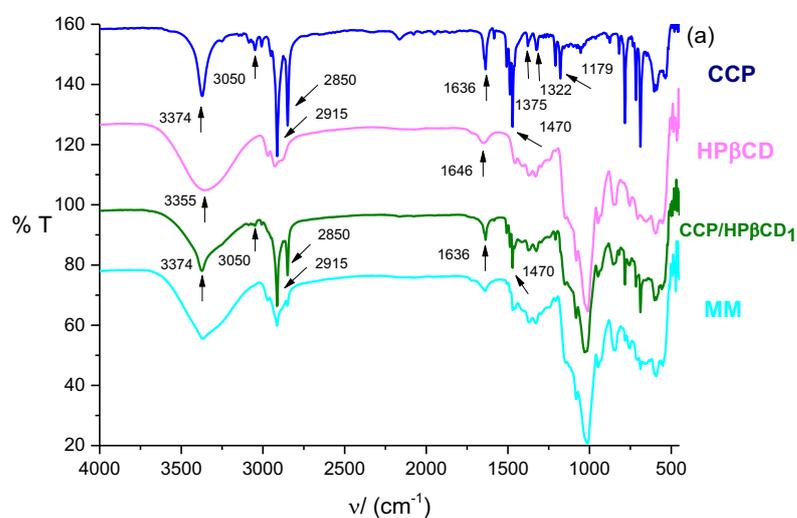
	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos	$\nu(\text{C=C})$ anel aromático	$\nu(\text{C=O})$ ésteres e ácidos carboxílicos	$\nu(\text{C-H})$ alcanos	$\nu(\text{C-O})$ ligações glicosídicas	$\delta(\text{C-H}_2)$ $\delta(\text{C-H}_3)$ alcanos
CCP	3374	3050	1636	-	2915; 2850	-	1470; 1375
XANT	3360	-	-	1730	2900	1024	
MM	3374	3050	1636	1730	2915 2850	1024	
CCP/ XANT	3360	-	-	1730	2915 2850	1024	1470

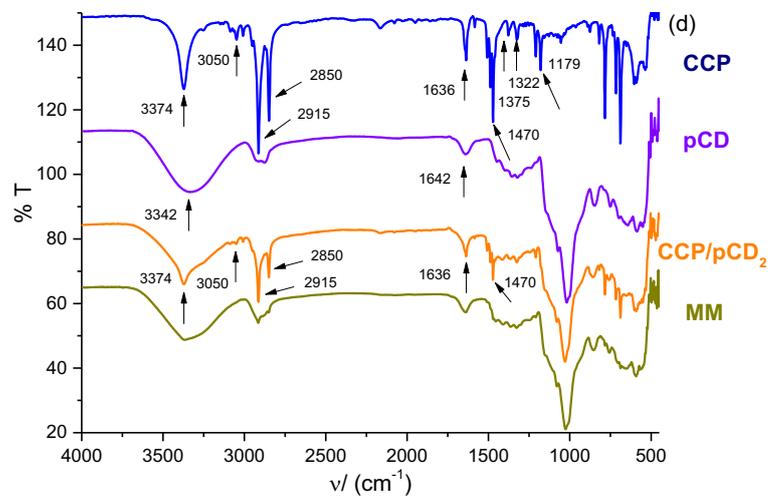
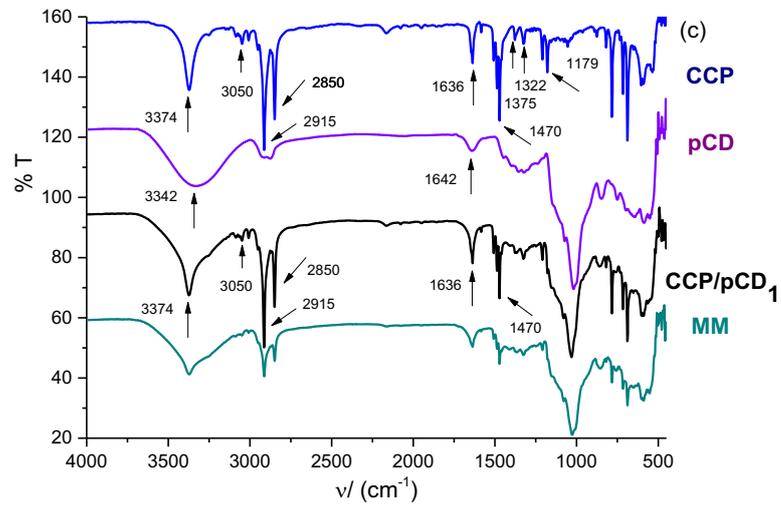
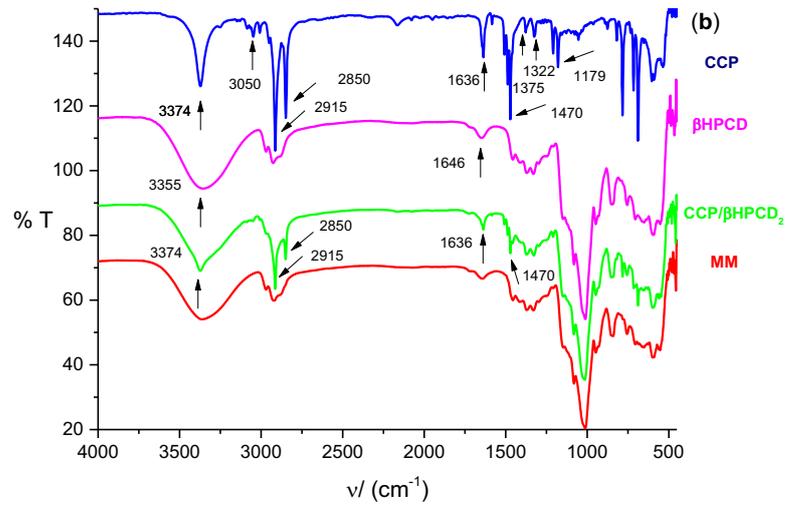
ν - estiramento; δ - deformação

Fonte: a autora (2023).

Na Figura 17 estão apresentados os espectros de infravermelho dos precursores CCP, HP β CD e pCD; dos complexos CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁, CCP/pCD₂ e respectivas MMs.

Figura 17 - Espectros de infravermelho do CCP, juntamente com: HP β CD, CCP/HP β CD₁ e MM (a), HP β CD, CCP/HP β CD₂ e MM (b), pCD, CCP/pCD₁ e MM (c) e pCD, CCP/pCD₂ e MM (d)





Fonte: a autora (2023).

Os espectros mostram absorções características de β CDs para HP β CD e pCD, as quais foram muito semelhantes, sendo elas: em 3355 cm^{-1} e 3342 cm^{-1} , respectivamente, relacionadas aos estiramentos simétrico e assimétrico de O-H; em torno de 2928 cm^{-1} , para ambas, atribuída aos estiramentos simétrico e assimétrico de C-H; em 1646 cm^{-1} e 1642 cm^{-1} , respectivamente, associada à deformação O-H de moléculas de água residual; bandas comuns para a maioria dos sacarídeos em torno de 1150 cm^{-1} atribuída ao estiramento C-O; em 1020 cm^{-1} referente ao estiramento C-O-C, para ambas (HE et al., 2011); bandas na região 850 cm^{-1} a 595 cm^{-1} referentes às vibrações de deformação fora do plano das ligações C-H do anel de piranose e ao estiramento assimétrico das ligações glicosídicas (MIRANDA, 2020).

Nos espectros de CCP/HP β CD₁ e CCP/HP β CD₂, Figura 17 (a) e (b), foram observadas bandas características da HP β CD e do CCP, porém com alterações, mostrando que houve a encapsulação. Em relação ao CCP, as principais mudanças foram: atenuação das bandas 3050 cm^{-1} ; 2915 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} e 1470 cm^{-1} ; diminuição das bandas em torno de 1636 cm^{-1} , e desaparecimento das 1179 cm^{-1} e 1322 cm^{-1} , sugerindo que o anel aromático possa estar na cavidade da HP β CD. O perfil do CI ficou mais próximo ao perfil da HP β CD, com as seguintes mudanças: afinamento e deslocamento da banda 3355 cm^{-1} , em decorrência da formação de um novo padrão de ligações de hidrogênio. Observa-se que a banda atribuída à água residual, 1646 cm^{-1} , não aparece no espectro dos CIs, sugerindo que a água presente na cavidade da HP β CD deu lugar ao CCP.

Comparando-se com o complexo CCP/XANT, pelo fato da XANT ser um polímero de cadeia aberta, com grupos carboidratos nas cadeias laterais, permite ligações de grupos O-H com a porção do anel piridínico do CCP. Já no CI, pelo fato do CCP ser uma molécula rígida, não possui uma geometria para fazer associação com O-H da CD. Existem moléculas de CCP fazendo interação de hidrogênio, mantendo a sua condição de estrutura hidratada.

É comum o espectro de infravermelho de MM ser a combinação das bandas dos precursores puros, e não foi diferente com os espectros de MM do CCP com HP β CD, nas proporções molares 1:1 e 1:2, onde as mudanças foram menos significativas em relação às mudanças observadas nos CIs, nas mesmas proporções.

Na Tabela 4 estão apresentadas as principais bandas observadas para o CCP, a HP β CD, CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂ e respectivas MMs.

Tabela 4 - Principais bandas (cm^{-1}) observadas na região do infravermelho para a hidroxipropil- β -ciclodextrina, complexos e misturas mecânicas

	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{C-H})$ aromático	$\nu(\text{C}=\text{C})$ anel aromático	$\nu(\text{C-H})$ alcanos	$\delta(\text{OH})$ H_2O	$\nu(\text{C-O})$	$\delta(\text{C-H})$ anel de piranose	$\delta(\text{C-H}_2)$ $\delta(\text{C-H}_3)$ alcanos
CCP	3374	3050	1636	2915; 2850	-	-	-	1470; 1375
HP β CD	3355	-	-	2928	1646	1150; 1020	850; 595	
CCP/ HP β CD ₁	3374	3050	1636	2915; 2850	-	1150; 1025	850	1470
MM	3374	-	1636	2915; 2850	1646	1150; 1020	850; 595	
CCP/ HP β CD ₂	3374	3050	1636	2915; 2850	-	1150; 1020	850	1470
MM	3374	-	-	2928	1646	1150; 1020	-	

ν - estiramento; δ - deformação

Fonte: a autora (2023).

Nos espectros de CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂, Figura 17 (c) e (d), foram observadas alterações semelhantes às descritas para os CIs do CCP em HP β CD, evidenciando a ocorrência da encapsulação, conforme a Tabela 5. No entanto, o espectro da MM de CCP com pCD (1:1) apresentou o perfil de bandas com algumas semelhante ao CI CCP/pCD₁, indicando uma possível interação intermolecular do CCP com a pCD a partir do momento em que os dois compostos são misturados, mesmo no estado sólido.

Tabela 5 - Principais bandas (cm^{-1}) observadas na região do infravermelho para a poli- β -ciclodextrina, complexos e misturas mecânicas

	v(OH)	v(C-H) aromático	v(C=C) anel aromático	v(C-H) alcanos	δ (OH) H ₂ O	v(C-O)	δ (C-H) anel de piranose	δ (C-H ₂) δ (C-H ₃) alcanos
CCP	3374	3050	1636	2915; 2850	-	-	-	1470; 1375
pCD	3342	-	-	2928	1642	1150; 1020	850; 595	
CCP/ pCD ₁	3374	3050	1636	2915; 2850	-	1150; 1030	850	1470
MM	3374	3050	-	2915; 2850	1642	1150; 1020	850	
CCP/ pCD ₂	3374	3050	1636	2915; 2850	-	1150; 1030	850	1470
MM	3374	-	-	2915; 2850	1642	1150; 1025	850; 592	

v - estiramento; δ - deformação

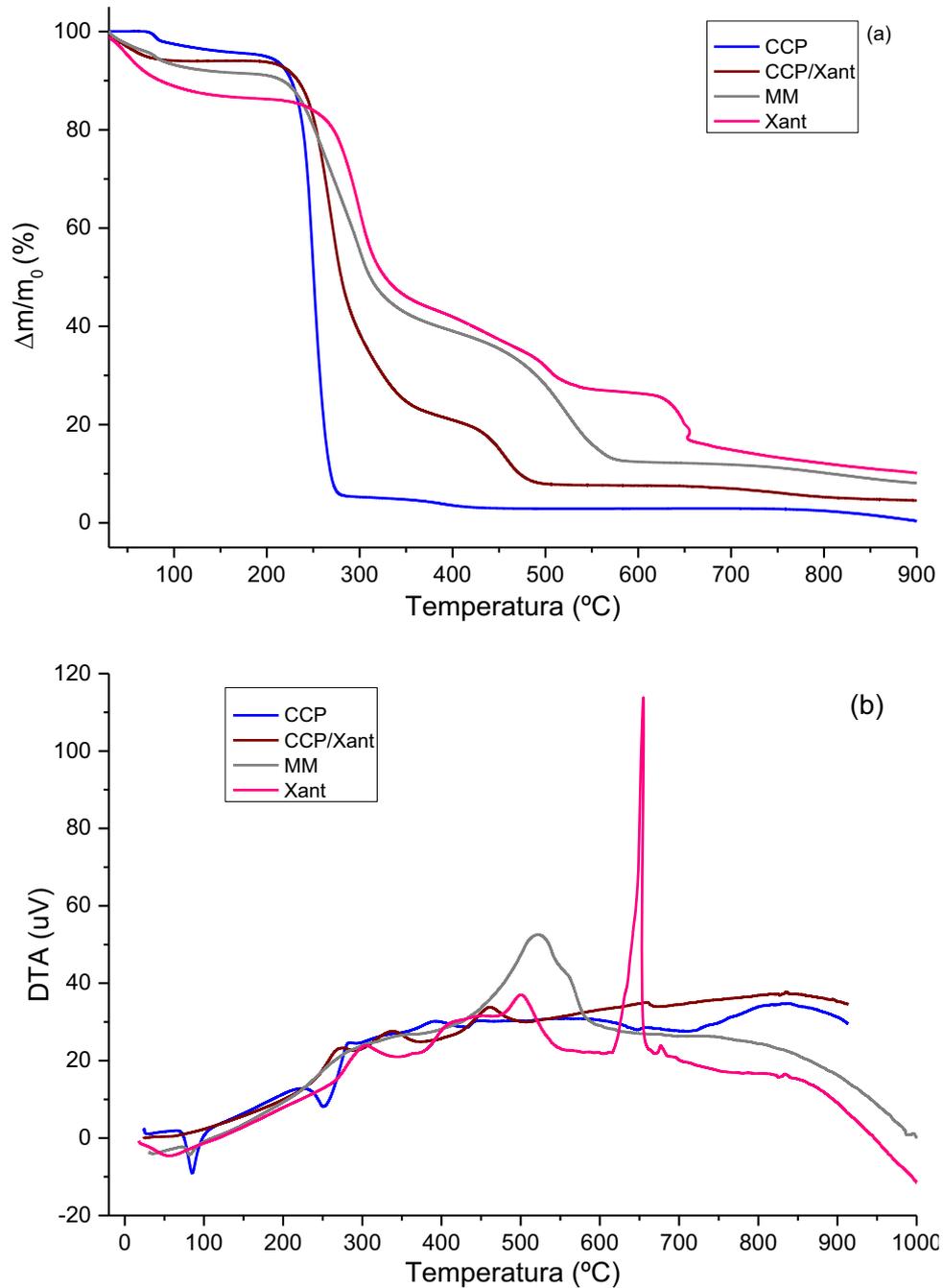
Fonte: a autora (2023).

5.1.2 Análise térmica: termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA)

As análises TGA e DTA são métodos analíticos usados para a caracterização de sistemas através da comparação das mudanças nas propriedades térmicas dos possíveis complexos e das misturas mecânicas com os componentes puros. Quando há a formação de complexos, as propriedades térmicas intrínsecas dos compostos são alteradas, tais como, modificações nas temperaturas de decomposição, em decorrência das interações intermoleculares (YAO et al., 2014). Por essa razão, essas técnicas permitem avaliar algumas propriedades importantes, incluindo reação de decomposição, conteúdo de umidade absorvida e estabilidade térmica (SARA et al., 2020).

Na Figura 18 estão apresentadas as curvas TGA (a) e DTA (b) do CCP, XANT, CCP/XANT e MM.

Figura 18 - Curva termogravimétrica (a) e Curva térmica diferencial (b) do CCP, XANT, CCP/XANT e MM



Fonte: a autora (2023).

O CCP apresentou dois eventos de perda de massa, sendo o primeiro atribuído à desidratação, o qual ocorre na faixa de 90 °C a 194 °C, referente à associação das moléculas de água, corroborando os dados de FTIR. O segundo evento, atribuído à decomposição e com maior perda de massa, inicia-se em 194 °C, com máxima em 251 °C e é finalizado em 280 °C.

Na curva DTA dois picos endotérmicos são observados, sendo um atribuído à desidratação e outro à decomposição.

Como pode ser observada na Figura 18, a primeira perda de massa da XANT, representada por um pico endotérmico da curva DTA, ocorre na faixa de 30 °C a 147 °C, o que corresponde a 13% de perda da massa total, atribuída à desidratação. A segunda etapa de perda de massa, referente ao pico exotérmico, ocorre na faixa de 210 °C a 374 °C, o que corresponde a 56% de perda de massa total, atribuída à primeira decomposição (decomposição pirolítica), incluindo descarboxilação dos grupos ácidos da cadeia lateral e dos anéis de carbono, conforme relatado em outros estudos (SARA et al., 2020). A taxa máxima de perda de massa ocorre em torno de 300 °C, uma vez que houve uma queda drástica da curva TGA e um aumento brusco da curva DTA.

No final do processo a XANT apresentou uma massa residual de 17% em torno de 652 °C, que deve ser devido à presença de matéria inorgânica no composto, na forma de sais de Na^+/K^+ com Cl^- .

Como já mencionado, a curva TGA da XANT pura exibe intensa etapa de desidratação até 147 °C, enquanto o complexo CCP/XANT apresenta padrão térmico diferente nessa mesma etapa, a qual ocorre apenas até a 83 °C. Essas diferenças mostram que a complexação afetou as interações entre a água e o polímero. Possivelmente, a presença da porção hidrofóbica do CCP no complexo, reduziu a capacidade de retenção de água por ligações de hidrogênio entre os grupamentos polares da XANT, especialmente os grupos O-H, como já relatado em outros estudos sobre biopolímeros (SESLIJA et al., 2018).

Nas curvas TGA e DTA da MM se observam eventos relacionados à XANT e ao CCP, com algumas diferenças no perfil térmico. Inclusive, a curva mostra o pico endotérmico referente à desidratação, semelhante ao CCP puro. A etapa de degradação mais intensa na MM ocorre em uma faixa de temperatura de 190 a 364 °C, com perda máxima em 280 °C.

O complexo CCP/XANT apresenta um perfil térmico diferente dos precursores e da própria MM (Tabela 6). Observa-se que no complexo há uma redução de moléculas de água residuais, em relação à XANT pura, uma vez que a etapa de desidratação ocorre em uma faixa inferior de temperatura (30 a 83°C). O evento de decomposição de CCP/XANT se inicia em 199°C, temperatura superior à observada para o CCP (194 °C) e para a MM (190 °C), mostrando maior estabilidade térmica do complexo em relação ao CCP puro e que houve, de fato, interação entre os dois compostos.

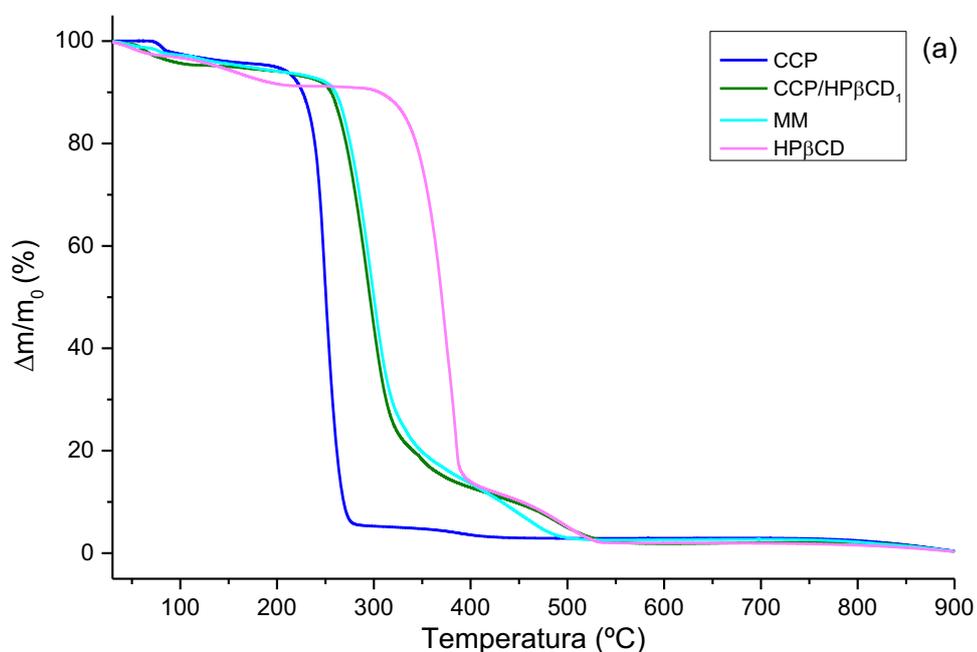
Tabela 6 - Tabela com os principais eventos térmicos atribuídos ao CCP, XANT, CCP/XANT e MM

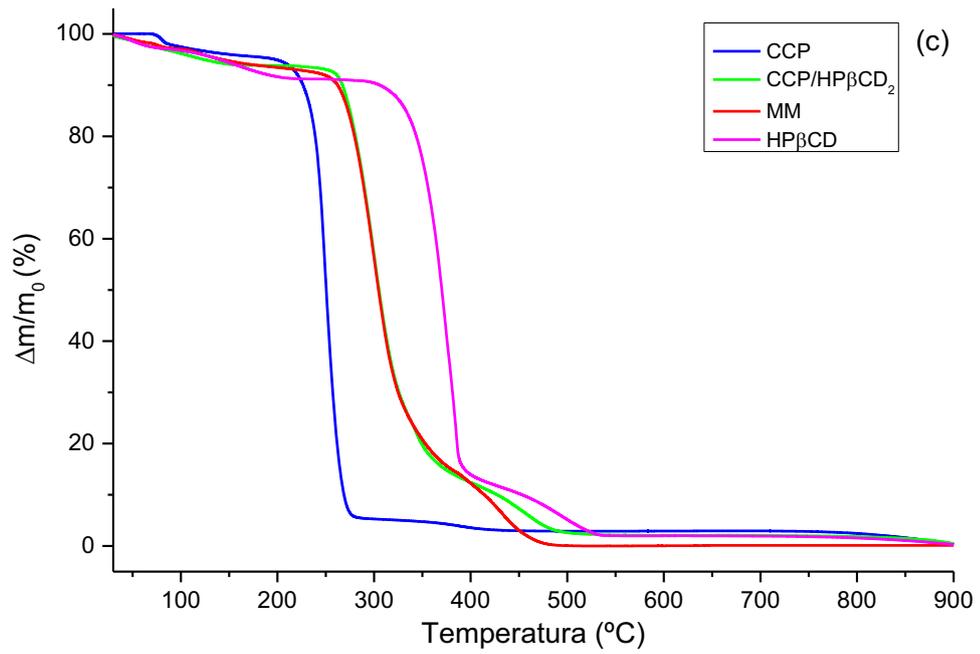
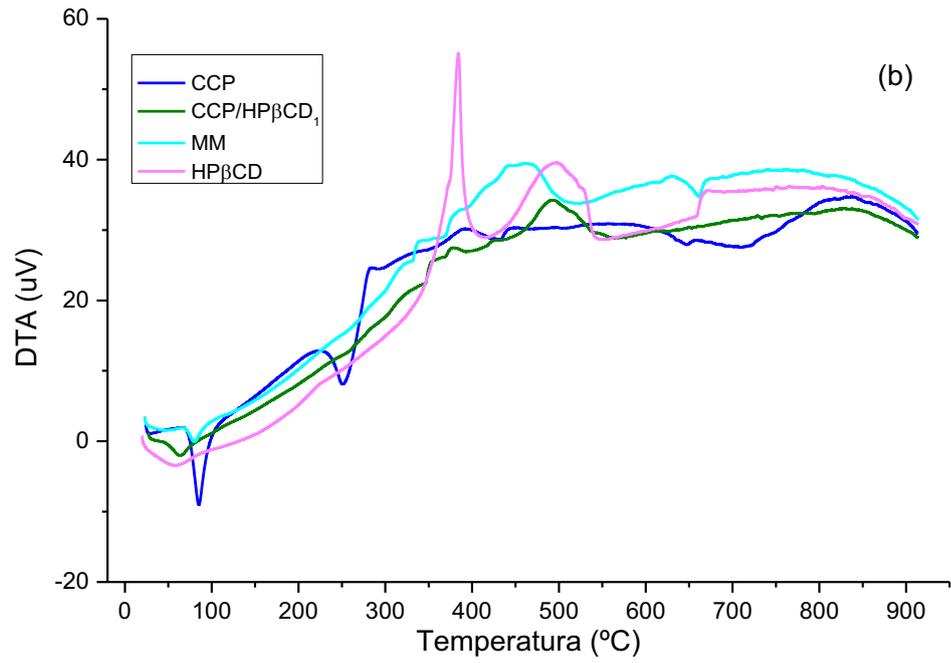
Material	1ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp (°C)	2ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp. (°C)	3ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp. (°C)
CCP	5	90-194	90	194-280	-	-
XANT	13	30-147	43	210-374	27	374-652
CCP/XANT	6	30-83	71	199-370	15	370-494
MM	6	30-83	53	190-364	29	364-591

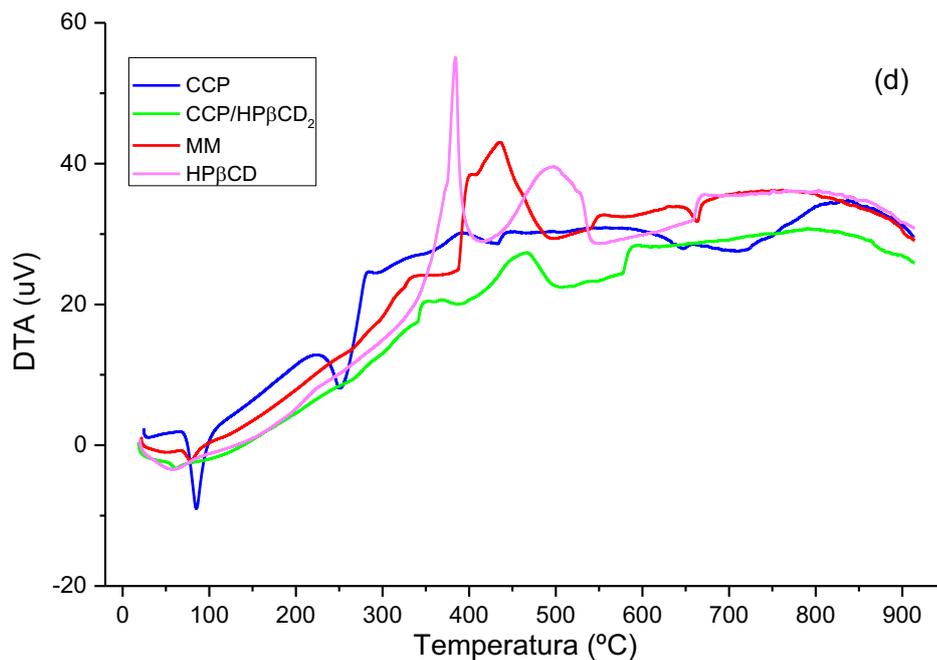
Fonte: a autora (2023).

Na Figura 19 estão apresentadas as curvas de TGA (a) e DTA (b) do CCP, HP β CD, CCP/HP β CD₁ e MM. Assim como, TGA (c) e DTA (d) do CCP, HP β CD, CCP/HP β CD₂ e MM.

Figura 19 - Curva termogravimétrica (a) e Curva térmica diferencial (b) do CCP, HP β CD, CCP/HP β CD₁ e MM. Curva termogravimétrica (c) e Curva térmica diferencial (d) do CCP, HP β CD, CCP/HP β CD₂ e MM







Fonte: a autora (2023).

Ao analisar a curva TGA e DTA da HP β CD pura, observa-se um pico endotérmico que representa o primeiro estágio de perda de massa (10%), o qual é sugestivo de desidratação, ocorrendo suavemente de 30 °C a 200 °C. Parte da água residual se encontra retida na cavidade da HP β CD, o que dificulta a sua evaporação e estende a faixa de temperatura deste processo (CETIN BABA OGLU et al., 2017). Em seguida se observam mais dois estágios de degradação, um a 280°C e o outro em torno de 407 °C até 537 °C, ambos atribuídos à decomposição do composto.

As MMs mostram propriedades térmicas próximas aos seus respectivos CIs CCP/HP β CD₁ e CCP/HP β CD₂, sugerindo que ocorreu interação entre os compostos mesmo no estado sólido. Porém, as curvas apresentaram diferenças nas faixas de temperatura para as etapas de perda de massa em relação aos precursores.

O CCP/HP β CD₁ e o CCP/HP β CD₂ apresentam a curva da primeira decomposição mais estreita em relação à curva referente ao mesmo evento da HP β CD pura, mostrando que a reação ocorre numa velocidade maior. Ambos complexos apresentam mudança nas faixas de temperatura em todos os eventos de perda de massa em relação aos precursores, mostrando que ocorreu a encapsulação nas duas proporções molares. A começar pela desidratação de CCP/HP β CD₁ (até 107 °C) e de CCP/HP β CD₂ (até 152 °C), temperaturas inferiores à da HP β CD para o mesmo evento. Isso mostra que houve diminuição das moléculas de água residuais. No entanto, a encapsulação parece ter sido mais efetiva para a proporção 1:1, visto

que CCP/HP β CD₁ perdeu menos massa referente à desidratação e numa faixa de temperatura mais baixa, conforme a Tabela 7.

Pode-se observar que os CIs começam a perder massa desde o início, mostrando que as moléculas de água não estão mais tão fortemente ligadas ao CCP. Em relação a HP β CD, observa-se que a etapa da decomposição completa do material começa na mesma região, porém, a perda de massa é muito mais significativa. Em torno de 250 °C até 380 °C, associada à saída e a decomposição do CCP, presente no CI. Após isso, continua o processo de decomposição térmica referente à porção da CD.

O CCP puro apresentou 95% de perda de massa, decorrente do processo de decomposição, a 280 °C. Perda equivalente foi observada para os complexos CCP/HP β CD₁ a 550 °C e CCP/HP β CD₂ a 501 °C. Isso é indicativo de que o CCP foi protegido na cavidade da molécula de HP β CD, em ambos os complexos, aumentando a sua estabilidade térmica, a qual foi ainda maior em CCP/HP β CD₁.

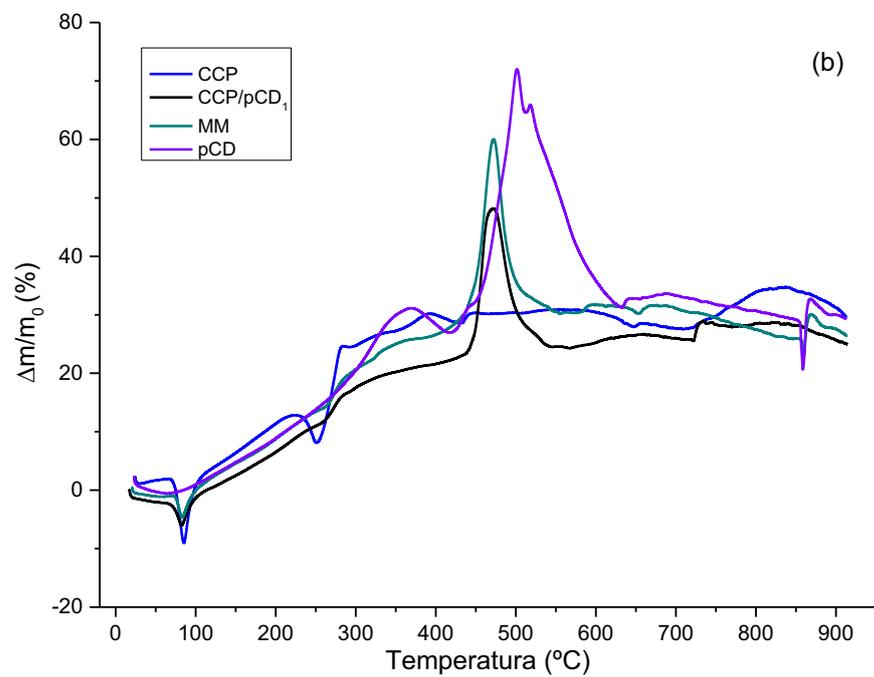
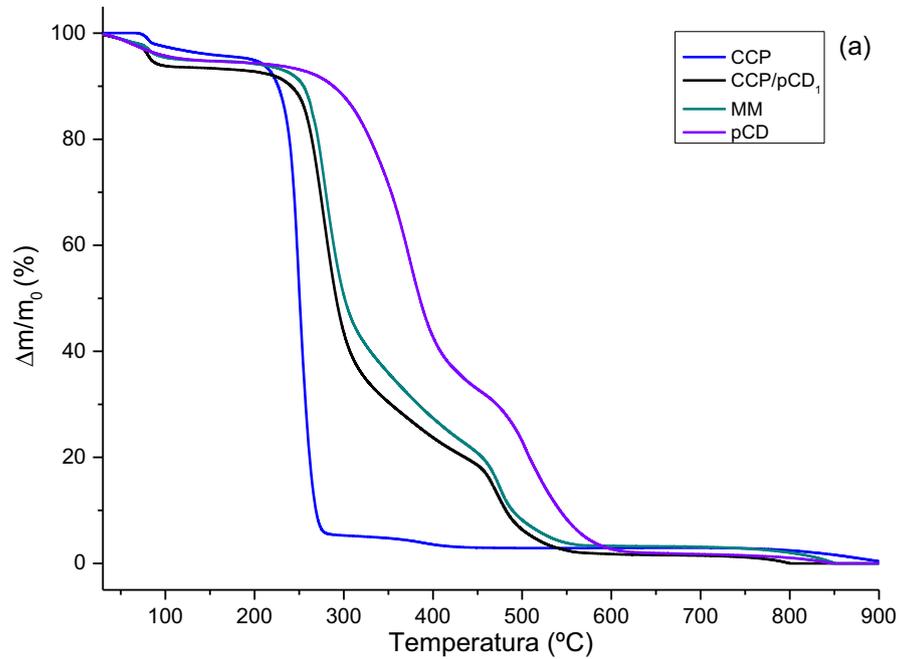
Tabela 7 - Principais eventos térmicos atribuídos ao CCP, HP β CD, CCP/HP β CD₁, CCP/HP β CD₂ e respectivas MMs

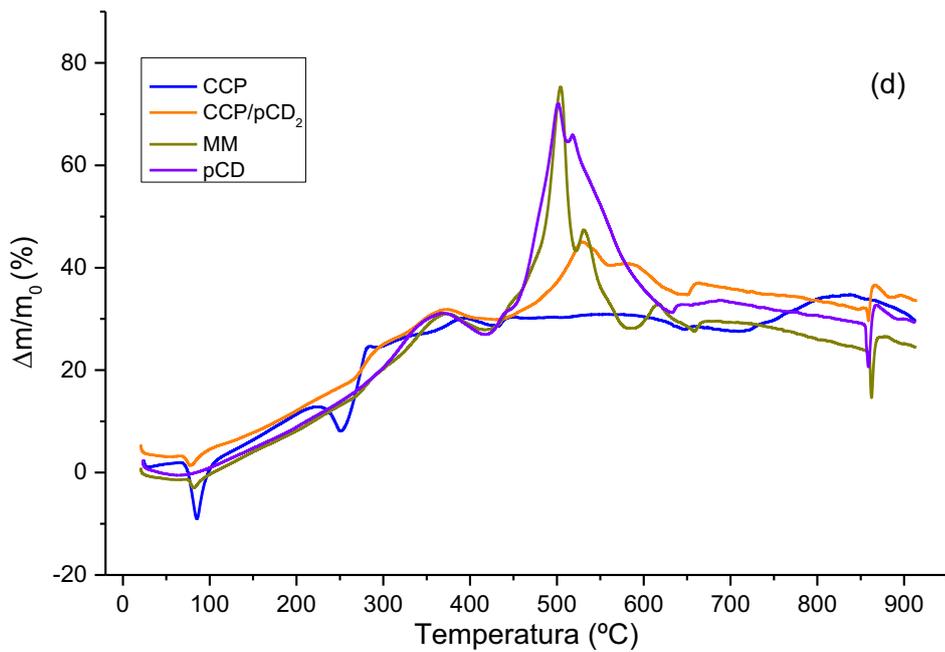
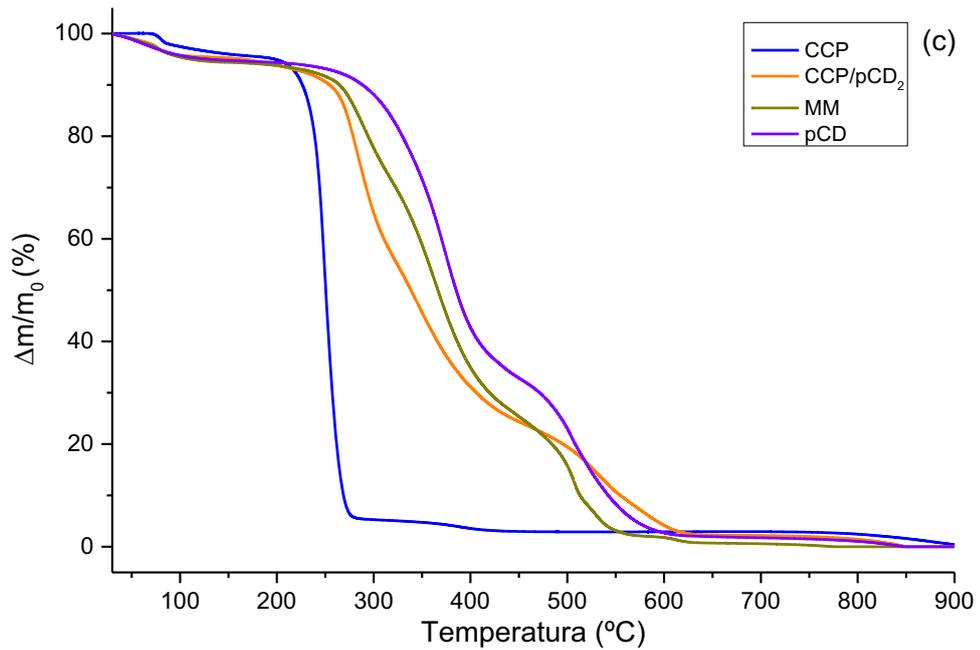
Material	1ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp (°C)	2ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp. (°C)	3ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp. (°C)
CCP	5	90-194	90	194-280	-	-
HP β CD	10	30-200	77	280-407	11	407-537
CCP/HP β CD ₁	5	30-107	81	168-386	12	386-550
MM	6	30-162	78	179-373	13	373-507
CCP/HP β CD ₂	6	30-152	82	230-398	10	398-501
MM	6	30-165	78	189-371	15	371-479

Fonte: a autora (2023).

A Figura 20 mostra as curvas de TGA (a) e DTA (b) do CCP, pCD, CCP/pCD₁ e MM. Assim como, TGA (c) e DTA (d) do CCP, pCD, CCP/pCD₂ e MM.

Figura 20 - Curva termogravimétrica (a) e Curva térmica diferencial (b) do CCP, pCD, CCP/pCD₁ e MM. Curva termogravimétrica (c) e Curva térmica diferencial (d) do CCP, pCD, CCP/pCD₂ e MM





Fonte: a autora (2023).

A curva TGA e DTA da pCD, apresenta um pico endotérmico relacionado à primeira etapa de perda de massa, a qual foi de 5%, na faixa de temperatura de 30 °C a 120 °C, atribuída à desidratação. De 120 °C a 203 °C não houve evidências de perda de massa. Em 203 °C se inicia o primeiro evento associado à decomposição, permanecendo até 432 °C, onde se inicia mais um evento de decomposição, se estendendo até 620 °C. Maiores detalhes são mostrados na Tabela 8.

As MMs CCP/pCD (1:1) e (1:2) apresentaram diferenças nas propriedades térmicas em comparação com os precursores puros e semelhanças em relação ao perfil térmico da curva dos complexos, com a mesma proporção molar. Sobretudo, a MM correspondente ao complexo CCP/pCD₁, corroborando com os dados de FTIR que também indicaram a possibilidade de interação entre os compostos ao serem misturados.

A faixa de temperatura 30 °C a 95 °C, referente à perda de água de ambos complexos CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂ é bem menor que a faixa observada para a pCD pura, a qual se finaliza em 120 °C. Isso mostra que houve diminuição das moléculas de água residuais, sendo indicativo de que ocorreu a encapsulação do CCP que provavelmente deslocou as moléculas de água da cavidade da policiclodextrina e de sua superfície. No entanto, claramente aquele evento endotérmico referente à desidratação do CCP está presente na curva DTA dos CIs, mostrando que as interações da molécula de água ainda acontecem, corroborando os dados de FTIR.

Quanto à estabilidade térmica, CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂ são menos estáveis que a pCD pura, uma vez que a degradação desta se inicia a 203 °C, temperatura superior às observadas para os complexos, as quais foram, 173 °C e 153 °C, respectivamente. Contudo, o término da degradação dos complexos ocorre a 568 °C (CCP/pCD₁) e 624 °C (CCP/pCD₂), ou seja, temperaturas próximas à temperatura final de degradação da pCD que é 620 °C. Além disso, é importante ressaltar que os CIs apresentam estabilidade térmica muito maior em relação ao CCP puro, uma vez que o término da degradação de ambos ocorreu em temperaturas muito superiores à observada para o CCP, a qual foi 280 °C.

A temperatura mais alta referente ao término da decomposição observada para pCD e seus complexos, em relação à HPβCD e seus complexos, pode ser explicada pela complexidade da cadeia polimérica, devido às ligações entre os monômeros e as ligações da própria ciclodextrina.

Tabela 8 - Tabela com os principais eventos térmicos atribuídos ao CCP, pCD, CCP/pCD₁, CCP/pCD₂ e respectivas MMs

Material	1ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp (°C)	2ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp. (°C)	3ª Perda de massa (%)	Intervalo de temp. (°C)
CCP	5	90-194	90	194-280	-	-
pCD	5	30-120	60	203-432	33	432-620
CCP/pCD ₁	6	30-95	68	173-381	24	381-568
MM	5	30-108	65	158-383	27	383-562
CCP/pCD ₂	5	30-95	70	153-444	24	444-624
MM	6	30-121	65	195-427	27	427-566

Fonte: a autora (2023).

5.1.3 Caracterização coloidal dos sistemas CCP/XANT, CCP/ HPβCD e CCP/pCd

5.1.3.1 Sistema CCP/XANT

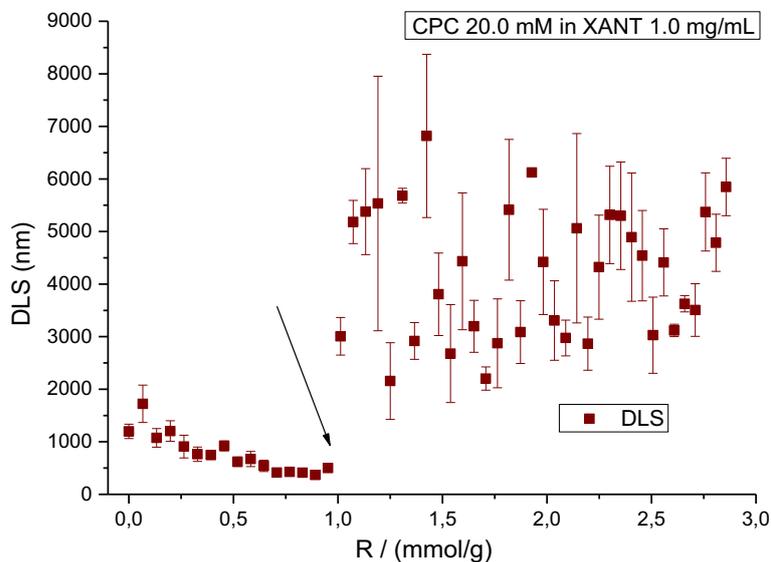
A análise por espalhamento dinâmico de luz (DLS, do inglês, *dynamic light scattering*) é uma técnica usada para caracterizar o tamanho de partículas em colóide, utilizando a iluminação de uma suspensão de partículas que apresentam movimento Browniano por um feixe de laser. O parâmetro físico-químico denominado diâmetro hidrodinâmico (D_h) é fornecido pela medida da flutuação da intensidade de luz espalhada em função do tempo, a qual ocorrerá com maior velocidade quando a dispersão contiver partículas pequenas (GORDILLO-GALEANO; MORA-HUERTAS, 2021). A velocidade do movimento browniano é expressa pelo coeficiente de difusão translacional (D). O diâmetro obtido por esta técnica é o diâmetro de uma esfera que possui o mesmo coeficiente de difusão translacional da partícula. A partir do D obtido na equação 3, é possível calcular o D_h usando a equação de Stokes-Einstein (Equação 1) (MAHJOUR; AOUISSI; OTHMAN, 2018):

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R_h} \quad \text{Eq.1}$$

Onde: R_h = raio hidrodinâmico, D = coeficiente de difusão translacional, k = constante de Boltzmann, T = temperatura absoluta e η = viscosidade.

No presente trabalho, foram realizadas medidas de DLS para determinação do D_h das macromoléculas de XANT na presença de concentrações crescentes de CCP (Figura 21).

Figura 21 – Variação do diâmetro hidrodinâmico de soluções de XANT em função da concentração de CCP, com ângulo de espalhamento a 90° à 25 °C



Fonte: a autora (2023).

Quando a XANT pura está dispersa no meio, encontra-se envolta de moléculas de água, atraídas pelos grupos hidrofílicos ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ e $-\text{COO}^-$). O tamanho das partículas pode ser então determinado por fenômenos como ligações de hidrogênio ou forças de repulsão eletrostática, devido ao alto teor de grupos decorrente dos grupos ácido carboxílico desprotonados nas cadeias laterais (WANG et al., 2016).

Para melhor compreensão dos resultados, é necessário considerar todas as interações inter e intramoleculares que podem ser formadas em determinados sistemas coloidais (SESLIJA et al., 2018). Já é bem conhecido que em soluções aquosas diluídas de polieletrólito e surfactante de carga oposta, as moléculas de surfactante se associam às cadeias poliméricas formando agregados ou aglomerados moleculares (KHAN; BRETTMANN, 2018).

O gráfico da Figura 21 mostra que à medida que o CCP é titulado, ocorre uma perturbação nas interações intermoleculares polímero-polímero e polímero solvente, devido à forte interação eletrostática com a XANT, ocasionando uma diminuição dos valores de tamanho de partícula até a razão 1 mmol/g. Após atingir o ponto estequiométrico, embora a curva não esteja bem comportada, percebe-se um aumento nos valores de D_h . Uma possível explicação para esse fato é que o CCP é um composto anfifílico, apresentando uma “cabeça”

polar e uma “cauda” hidrocarbônica apolar, capaz de formar micelas em solução aquosa. Esse fenômeno possivelmente é o que ocorre a partir de 1mM, conforme já relatado anteriormente em um outro estudo (MIRANDA, 2020). As micelas são estruturas de maior volume, capazes de se organizar formando agregados, justificando o aumento nos valores de D_h . Inclusive Mahjoub e colaboradores (2018) ao estudarem as interações entre carboximetilcelulose sódica, um polissacarídeo aniônico, e cloreto de cetilpiridínio, evidenciaram a ocorrência de ligações entre as várias cadeias do polímero “decoradas” com micelas, através de interações hidrofóbicas inter-cadeias, levando à formação de agregados e ocasionando um aumento do D_h . O mesmo comportamento possivelmente tenha ocorrido com a macromolécula de XANT após a suposta formação de micelas.

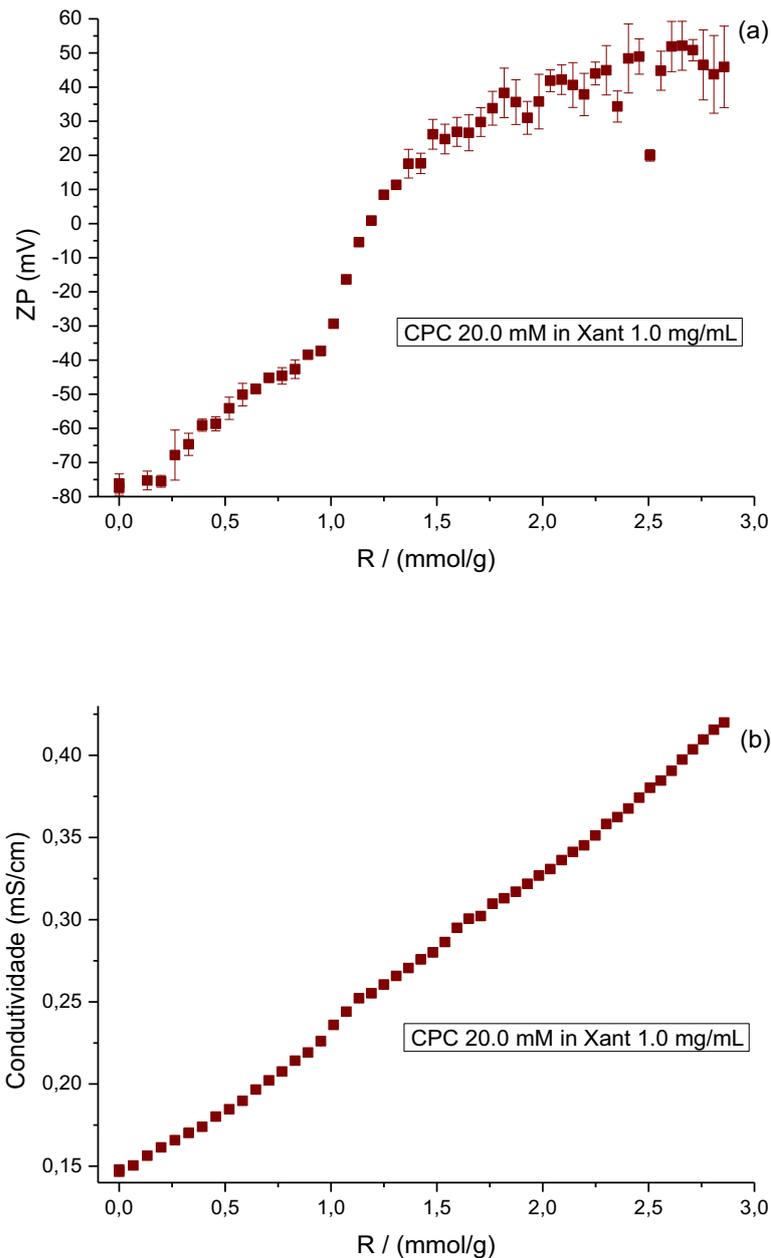
As interações entre os dois compostos também foram investigadas pela determinação de valores de ZP em regime de titulação, os quais são muito úteis para a avaliação da estabilidade coloidal de sistemas nanoestruturados. Valores altos de ZP são indicativos de menor tendência de coalescência, uma vez que resulta da alta concentração de cargas na superfície das partículas, as quais aumentam a repulsão entre elas. Quando os valores de ZP são superiores a ± 30 mV, o sistema é considerado estável, pois as partículas se repelem evitando aglomerações (BRUNCHI et al., 2016a).

No presente estudo, o valor de ZP (~ -77 mV) no início das titulações, decorrente do caráter aniônico do biopolímero, está de acordo com a literatura. Galván et al. (2018) relataram que a presença de sais ocasiona a diminuição das repulsões eletrostáticas entre as cadeias do biopolímero em dispersão aquosa, levando a uma diminuição dos valores de ZP. Para tanto, os autores utilizaram uma dispersão de xantana pura com ZP igual a (-67 mV), o qual se reduziu para (~ -28 mV) em soluções contendo cátions bivalentes (Mg^{2+} e Ca^{2+}). Zhang et al. (2021) encontram ZP (~ -60 mV) para a xantana pura ao estudarem o uso de solução xantana para melhorar a estabilidade de nanopartículas de zeína.

Os valores médios de ZP durante esse experimento são mostrados na Figura 22 (a). Observa-se que os valores médios de ZP durante as titulações vão ficando menos negativos, devido à neutralização de cargas negativas da XANT ocasionada pela presença do CCP, por ser um antimicrobiano catiônico. A curva mostra uma diminuição nos valores de ZP a partir da razão 0,2 até 1 mmol/g, apontando um ponto estequiométrico. Ao longo das titulações subsequentes o ZP passa pelo zero e continua aumentando, mostrando a ocorrência de uma inversão de carga, devido à saturação da macromolécula pelo CCP. Nessas regiões deve ocorrer a formação de micelas, em decorrência do aumento da concentração de CCP,

elevando os valores de ZP para (+45 mV), valor este que está dentro da faixa de estabilidade. O valor positivo da carga superficial se deve à característica catiônica do CCP.

(a) Variação do potencial zeta e (b) da condutividade elétrica da solução de XANT a 1 mg/mL em função das concentrações de CCP, com ângulo de espalhamento de 173°, a 25 °C



Fonte: a autora (2023).

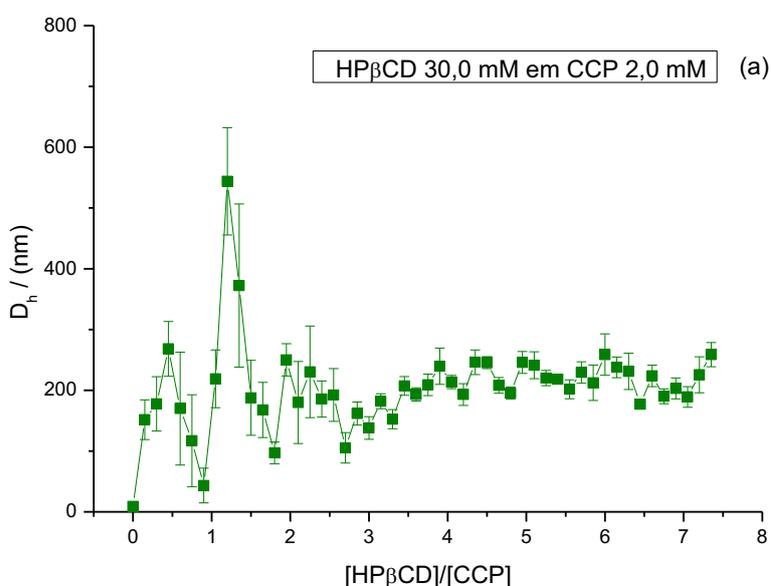
A Figura 22 (b) mostra os valores de condutividade elétrica para a mesma amostra ao longo das titulações. A condutividade da XANT em água é determinada pelos resíduos de

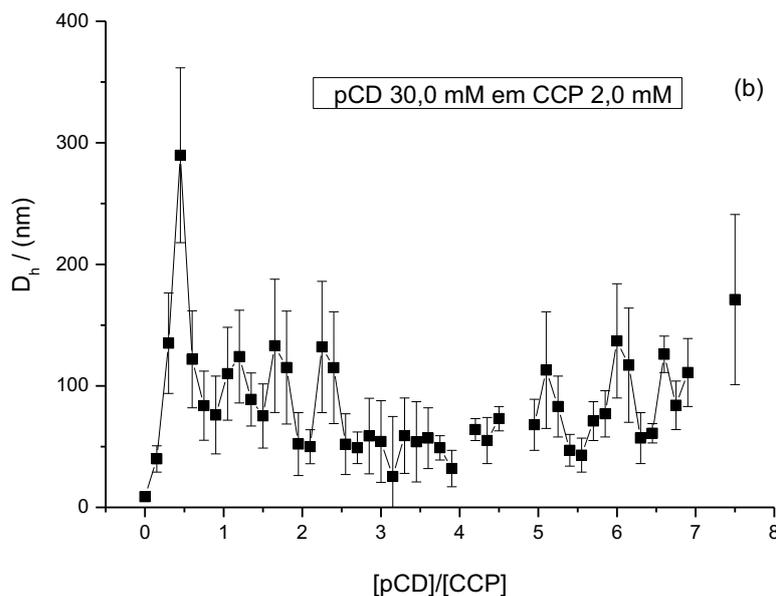
ácidos glucurônico e pirúvico em sua molécula e pelos cátions, como Na^+/K^+ (BRUNCHI et al., 2016b). Mesmo durante a formação dos complexos, há um aumento da condutividade elétrica em função da concentração de CCP, que pode ser explicado pelo aumento na concentração de íons Cl^- e CCP^+ após a equivalência. Observa-se que a curva de condutividade também mostrou uma leve inflexão à razão 1 mmol/g, semelhante ao comportamento da curva de ZP, indicando um ponto estequiométrico, a partir do qual a condutividade continua aumentando em razão do excesso de CCP na forma livre.

5.1.3.2 Sistemas CCP/HP β CD e CCP/pCD

As interações entre o CCP com HP β CD e com a pCD também foram monitoradas através de medidas do tamanho de partícula. A Figura 23 corresponde à curva obtida nos experimentos de DLS, nos quais o D_h do CCP foi analisado em função das concentrações de HP β CD (23 a) e pCD (23 b).

Figura 22 - Variação do diâmetro hidrodinâmico de partículas de solução de CCP a 2 mM em função das concentrações de HP β CD (a) ou de pCD (b), com ângulo de espalhamento 90°, à 25°C





Fonte: a autora (2023).

No sistema CCP/HP β CD (Figura 23 a), observa-se um aumento de tamanho de partícula a partir das primeiras titulações da HP β CD, seguido de um declínio. Uma possível explicação é que a concentração de CCP utilizada foi de 2 mM e, de acordo com Alves e colaboradores (2014) em solução aquosa a 1 mM, o CCP é capaz de formar micelas. No 1º ponto do gráfico, no qual não há a presença de HP β CD, o D_h ($\approx 5,4$ nm) é referente às micelas e está de acordo com o valor relatado por Sultana e colaboradores (2016), o qual foi 5,6 nm, nos experimentos de DLS para as micelas de CCP (solução 1,1 mM). Nas titulações iniciais, o aumento do D_h pode ser devido à formação de grandes agregados CCP/HP β CD, uma vez que as micelas de CCP são capazes de encapsular a HP β CD. À medida que as titulações vão ocorrendo e aumentando a proporção entre as duas espécies, ocorre a quebra das micelas e o tamanho das partículas diminui, uma vez que a formação do CI é um processo preferencial.

Segundo Miranda (2020), as interações CCP/CD devem ser bem mais intensas que as interações CCP/CCP nas micelas. O autor teve essa percepção ao constatar em seus experimentos um aumento da concentração micelar crítica do CCP na presença de β CD. O autor também observou um ligeiro aumento da variação da energia livre de Gibbs ($\Delta_{int}G^0$) referente à micelização em função da concentração de β CD, reforçando a hipótese de que a sua presença dificulta a micelização.

Uma nova elevação nos valores de D_h é observada à medida que aumentam as concentrações de CCP/HP β CD no meio, sugerindo que esse aumento é devido à repulsão eletrostática das moléculas de CCP associadas.

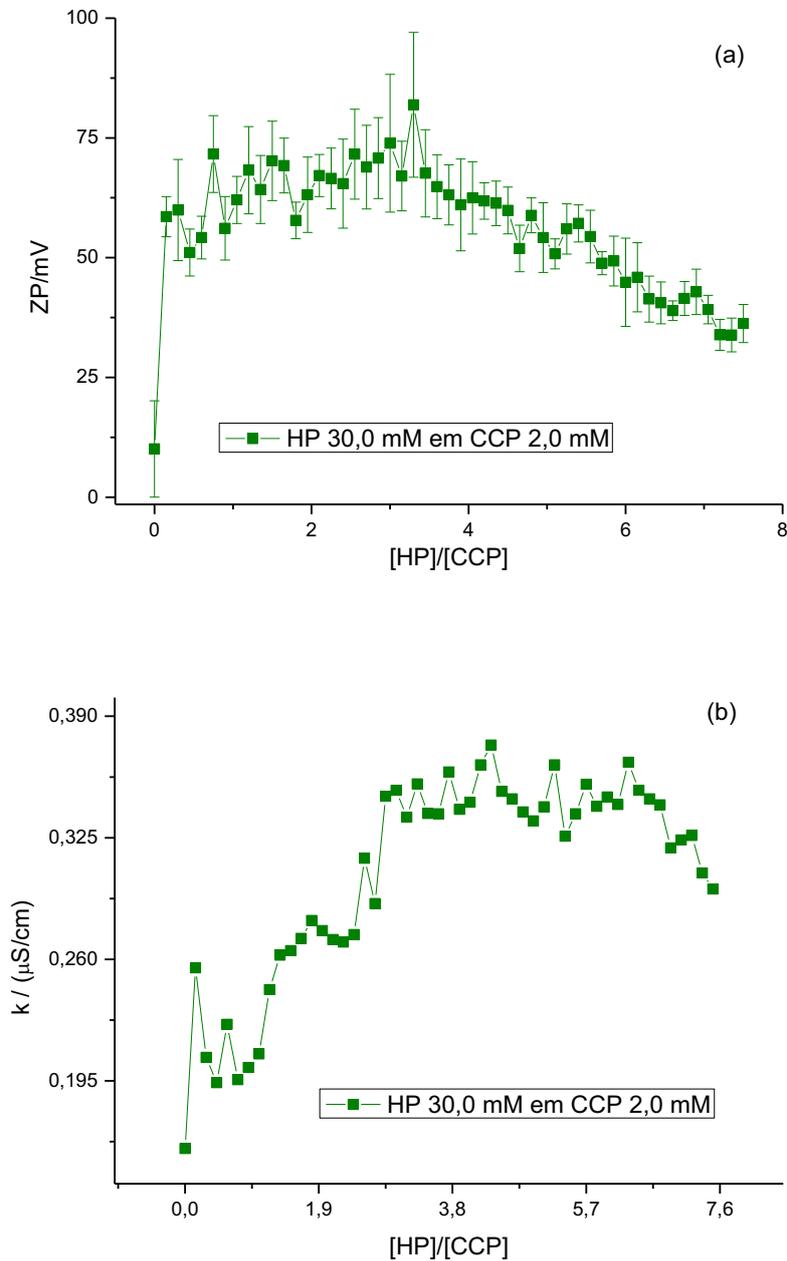
A partir de 1,5 se observam poucas variações no tamanho das partículas, o que pode também ser confirmado pela diminuição dos desvios padrões. Sendo assim, nas titulações até essa região deve ocorrer a formação do CI, e a partir daí, após a saturação das HP β CDs, o D_h não sofre grandes variações. O que pode ser também atribuído à presença da HP β CD, a qual confere maior capacidade às nanopartículas de interagirem com o solvente, devido à presença dos grupos -OH, o que dificulta a interação partícula-partícula e, conseqüentemente, a formação de agregados.

Do mesmo modo que no sistema anterior, na curva de titulação da pCD em CCP (Figura 23 b), o 1º ponto do gráfico D_h (7,6 nm) se referen às micelas. Pode-se perceber que a partir das primeiras titulações também há um aumento do D_h , porém, menos acentuado, uma vez que neste sistema não há a formação de agregados CCP/pCD, pelo fato da pCD ser uma macromolécula, logo não ocorre a encapsulamento pelas micelas. No entanto, à medida que as injeções vão ocorrendo, provavelmente há quebra das micelas, pelo fato da interação CCP/pCD, ao formar o CI, ser preferencial ao processo de micelização.

Para ambos os sistemas HP β CD e pCD, os valores finais de D_h ficaram na faixa entre 50 a 300 nm. Isso é vantajoso, uma vez que esta é a faixa de tamanho para nanopartículas utilizadas na área farmacêutica (MOREIRA, 2016).

O ZP foi medido para indicar os valores das cargas na superfície dos agregados, visando a compreensão de como ocorre a atração eletrostática entre CCP e HP β CD e entre CCP e pCD. Os valores de ZP e condutividade elétrica estão mostrados abaixo da seguinte forma: HP β CD Figura 24 (a e b) e pCD Figura 25 (a e b).

Figura 23 - (a) Variação do potencial zeta e (b) da condutividade elétrica da solução de CCP a 2 mM em função das concentrações de HP β CD, com ângulo de espalhamento de 173°, a 25 °C



Fonte: a autora (2023).

Ao analisar os resultados de ZP ao longo das titulações de HP β CD (Figura 24 a) e de pCD (Figura 25 a), percebe-se que os valores de ZP ficam mais positivos à medida que aumenta a concentração de CDs e complexos no meio. Têm-se valores de ZP positivos, atribuídos à presença dos grupos piridínio do CCP. Já foi relatado que complexo

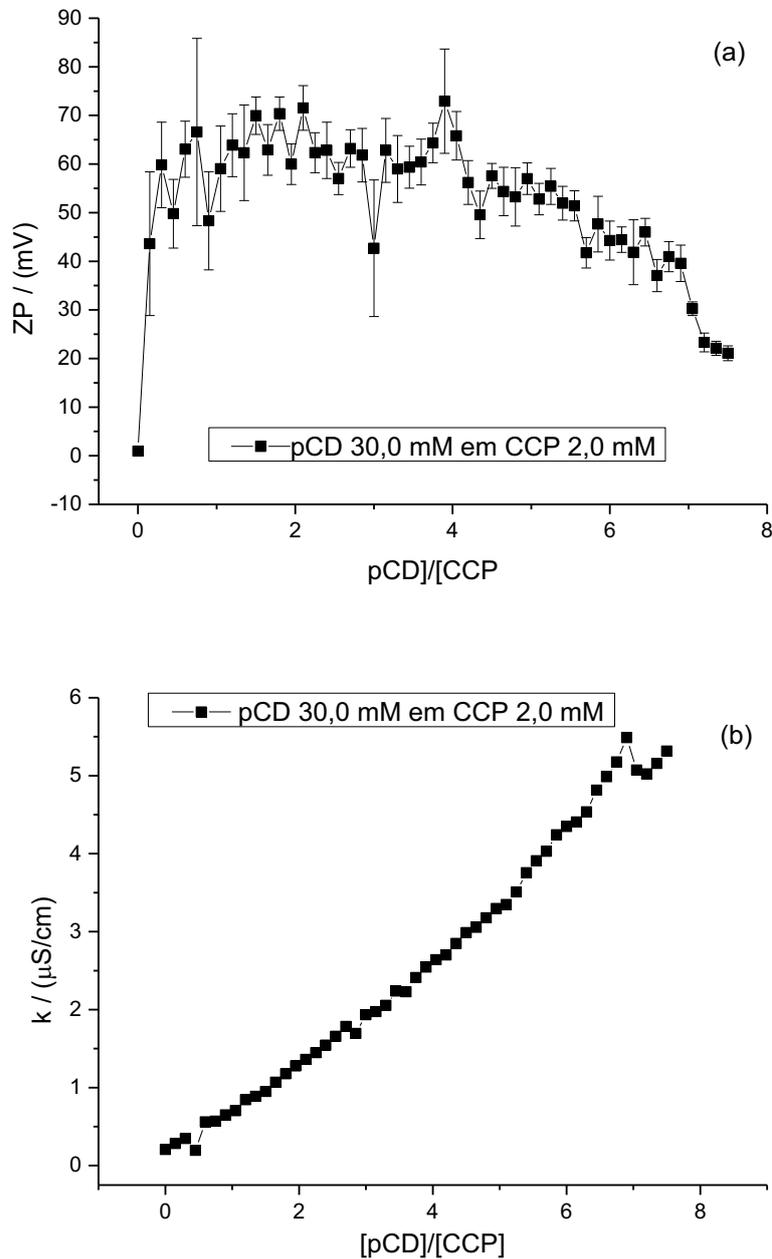
β CD/surfactantes são sistemas nos quais ocorre mudança de carga das estruturas coloidais, pois os surfactantes iônicos se dissociam dos contraíons e se complexam em β CD formando uma estrutura carregada em solução aquosa, o que justifica o aumento do ZP nos sistemas estudados neste trabalho (ROCHA, 2016).

Após a razão próxima a 3,5 se observa um declínio do ZP até (+ 36 mV) para CCP/HP β CD e (+ 21 mV) para CCP/pCD. Mediante esses valores, pode-se dizer que o sistema com a HP β CD se manteve estável, já o sistema com a pCD se mostrou na região de instabilidade.

O menor valor de ZP para CCP/pCD sugere que há algumas cavidades da pCD com duas moléculas de CCP. Sendo assim, uma maior concentração local de cargas ocasionaria uma adsorção de mais contraíons para blindar a interação repulsiva entre as regiões polares de duas moléculas de CCP na mesma cavidade do polímero. Essa hipótese pode justificar também os menores valores de D_h para o sistema CCP/pCD.

Na Figura 24 (b) estão apresentados valores de condutividade elétrica em função das concentrações de HP β CD e CCP/HP β CD. Pode ser observado que a variação da condutividade com a concentração acompanha a curva de DLS. O aumento observado nos valores de condutividade pode ser explicado pelo processo gradativo de desmicelização. A condutividade elétrica está intrinsecamente relacionada à mobilidade das partículas carregadas. As micelas são estruturas de maior volume e menor mobilidade, ou seja, são menos condutivas. Além disso, na forma agregada, elas atraem contraíons do meio, o que também contribui para a redução da condutividade (KARAYIL et al., 2016). Ao serem desestabilizadas, as micelas liberam os contraíons, o que justifica o aumento da condutividade.

Figura 24 - (a) Variação do potencial zeta e (b) da condutividade elétrica da solução de CCP a 2 mM em função das concentrações de HP β CD, com ângulo de espalhamento de 173°, a 25 °C



Fonte: a autora (2023).

A Figura 25 (b) apresenta os valores de condutividade elétrica em função das titulações de pCD em CCP. Observa-se um aumento dos valores de condutividade ao longo de toda a curva. O aumento observado nos valores de condutividade também deve ocorrer como consequência da desmicelização.

5.1.4 Titulações por calorimetria de titulação isotérmica

5.1.4.1 Sistema CCP/XANT

A calorimetria de titulação isotérmica é uma técnica que mede o fluxo de calor liberado ou absorvido pelo sistema durante um evento onde estão envolvidas interações inter e intramoleculares. Esta energia é registrada em função da concentração de reagente titulante, sendo o calor liberado ou absorvido proporcional à quantidade de reagente injetado (WISEMAN et al., 1989).

Com os dados obtidos através da isoterma de Wiseman (Equação 2) se determina a constante de equilíbrio aparente (K_a) e a estequiometria de reação (N). Por meio de equações da termodinâmica (Equação 3 e 4), a variação da energia livre de Gibbs ($\Delta_{int}G^\circ$), variação da entalpia ($\Delta_{int}H^\circ$) e variação da entropia ($\Delta_{int}S^\circ$) podem ser calculadas, fornecendo assim todos os parâmetros de ligação (CAVALCANTI et al., 2023; DENADAI et al., 2012; ZHANG et al., 2022).

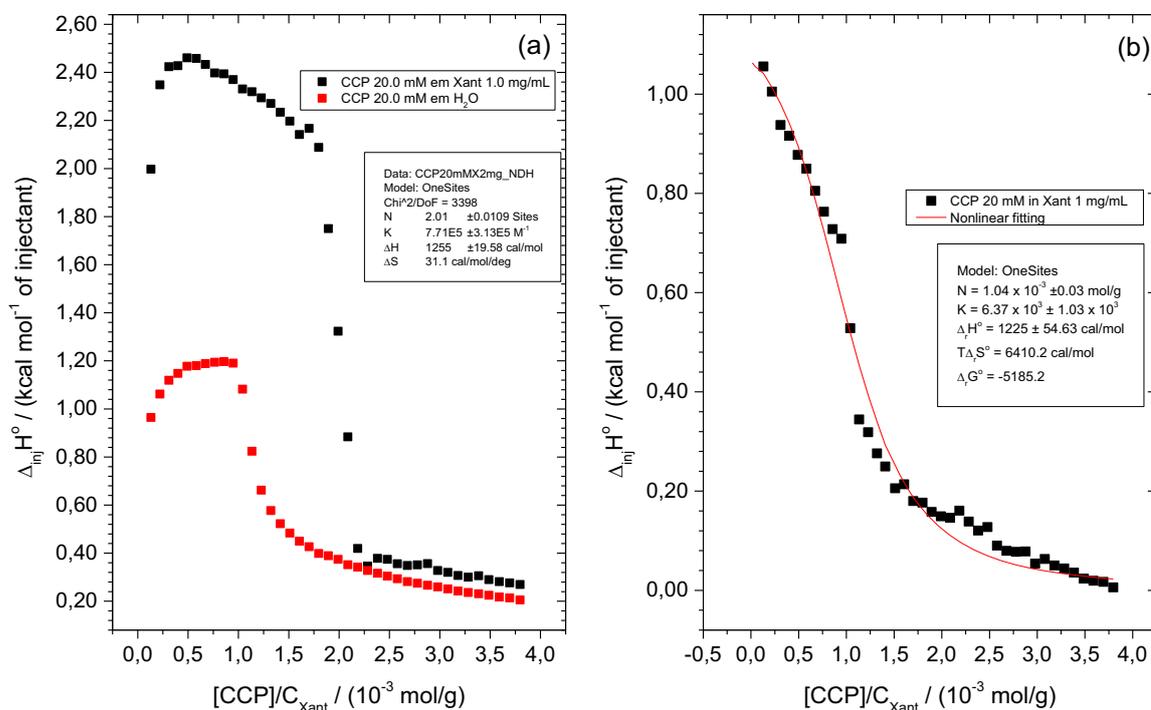
$$\frac{dQ}{d[tit]} = \Delta_{inj}H = \Delta H^\circ V^\circ \left[\frac{1}{2} + \frac{1-X_R - r}{2\sqrt{(1+X_R+r)^2 - 4X_R}} \right] \quad \text{Eq. 2}$$

$$\Delta_{int}G^\circ = -RT \ln K \Delta_{int}G^\circ = -RT \ln K \quad \text{Eq. 3}$$

$$\Delta_{int}G^\circ = \Delta_{inj}H^\circ - T \Delta_{inj}S^\circ \quad \text{Eq. 4}$$

A Figura 26 mostra o experimento de diluição do CCP a 20 mM em H₂O (**a**) e a curva de titulação do CCP (20 mM) em XANT a 1 mg/mL, após subtraído o branco (**b**). Esse procedimento visa excluir os efeitos de interação soluto-solvente, a fim de avaliar apenas as interações CCP/XANT (DENADAI et al., 2006). Na Tabela 9 estão apresentados os valores termodinâmicos.

Figura 25 - (a) Diluição do CCP a 20 mM em H₂O b) Curva final de titulação calorimétrica, após a subtração do branco, de CCP a 20 mM em solução xantana a 1 mg/mL



Fonte: a autora (2023).

O processo de complexação foi endotérmico ($\Delta_{int}H^\circ > 0$) indicando que as interações são favorecidas por entropia ($T\Delta_{int}S^\circ > 0$). Como pode ser observado, o máximo da curva de titulação é próximo da razão de 1 mmol/g, corroborando com os resultados de ZP e DLS. A constante de equilíbrio obtida foi $K_a = 6,37 \times 10^3$, valor este considerado moderado em outros sistemas encontrados na literatura ($1000 < K_a < 20000$) (TURNBULL; DARANAS, 2003).

Tabela 9 - Parâmetros termodinâmicos de interação cloreto de cetilpiridínio com xantana, a 298,15 K

N (mol/g)	K	$\Delta_{int}G^\circ$ (cal/mol)	$\Delta_{int}H^\circ$ (cal/mol)	$T\Delta_{int}S^\circ$ (cal/mol)
$1,04 \times 10^{-3} \pm 0,03$	$6,37 \times 10^3 \pm 1,03$ $\times 10^{-3}$	-5185,2	$1225,0 \pm 54,6$	6410,2

Fonte: a autora (2023).

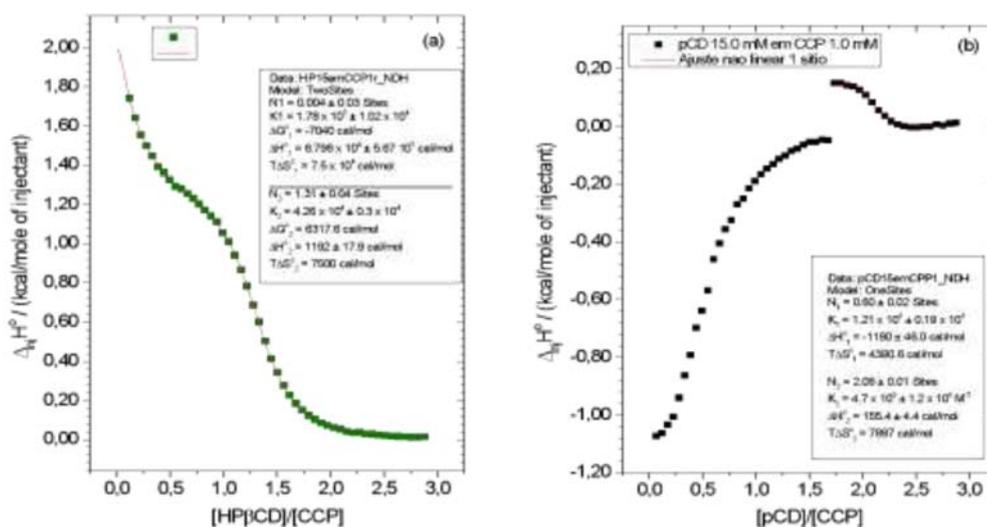
Os valores endotérmicos de entalpia indicam quebra de interações intermoleculares com formação subsequente de interações menos estáveis do que as anteriormente existentes.

Os valores positivos de entropia ($T\Delta_{int}S^o$) foram atribuídos à ocorrência de interações de natureza hidrofóbica, com quebra de ligações de hidrogênio. Ou seja, significa que esta reação é dominada pelo rearranjo do solvente em decorrência da dessolvatação das moléculas de CCP e XANT com concomitante liberação de moléculas de água para o meio (CAVALCANTI et al., 2023).

5.1.4.2 Sistemas CCP/HP β CD e CCP/pCD

Com o objetivo de se avaliar as interações da HP β CD e da pCD com o CCP, foi realizada, separadamente, a titulação de solução de HP β CD ou de pCD a 15 mM em solução de CCP a 1 mM. Na Figura 27 estão apresentadas as curvas finais de titulação da HB β CD em CCP e da pCD em CCP (b), após a subtração do branco. A Tabela 10 apresenta os valores termodinâmicos de interação entre HB β CD e CCP.

Figura 26 - Curva final de titulação calorimétrica, após a subtração do branco de (a) HB β CD a 15 mM em solução de CCP a 1 mM e de (b) pCD a 15 mM em solução de CCP a 1 mM (b)



Fonte: a autora (2023).

Tabela 10 - Parâmetros termodinâmicos de interação cloreto de cetilpiridínio com hidroxipropil- β -ciclodextrina, onde $T_{int}\Delta S^\circ$ (Termo entrópico da interação) a 298,15 K

	Estequiometria (N)	K	$\Delta_{int}G^\circ$ (cal/mol)	$\Delta_{int}H^\circ$ (cal/mol)	$T\Delta_{int}S^\circ$ (cal/mol)
N ₁	$4 \times 10^{-3} \pm 3 \times 10^{-2}$	$1,78 \times 10^5$ $\pm 1,02 \times 10^4$	-7040	$+ 6,796 \times 10^4 \pm$ $5,67 \times 10^5$	$+7,5 \times 10^4$
N ₂	$1,31 \pm 0,04$	$4,26 \times 10^4 \pm 0,3 \times$ 10^4	- 6317,6	$+ 1192 \pm 17,9$	+7500

Fonte: a autora (2023).

Os parâmetros termodinâmicos obtidos na curva final de titulação da HB β CD em CCP demonstram um perfil diferente do trivial, com uma estequiometria bem definida e uma estequiometria inicial não muito bem definida. Na primeira estequiometria ($N = 4 \times 10^{-3}$), temos a formação de grandes agregados CCP/HB β CD, pelo fato de no início da titulação existir micelas de CCP que podem encapsular a HB β CD.

De acordo com a Tabela 10, essa primeira etapa é endotérmica ($\Delta_{int}H^\circ > 0$) e foi favorecida pelo aumento de entropia ($T\Delta_{int}S^\circ > 0$). Os valores positivos de entalpia são devido à quebra das micelas e das estruturas de solvatação, ao passo que a entropia ($T\Delta_{int}S^\circ$) positiva é atribuída à ocorrência de interações hidrofóbicas. A variação positiva de entropia se explica pela extensa dessolvatação das moléculas durante o processo de inclusão, no qual ocorre dessolvatação da cavidade da CD e quebra da estrutura de solvatação dos grupos funcionais do CCP e liberação de moléculas de água que ganham graus de liberdade rotacionais e translacionais (AGNES et al., 2017).

O valor de constante de equilíbrio aparente, $K_a = 1,78 \times 10^5 \pm 0,10 \times 10^5$ foi considerado alto quando comparado ao descrito na literatura, sugerindo presença de fortes interações intermoleculares entre o CCP e a HB β CD (DE OLIVEIRA et al., 2014).

Os resultados observados mostram que à medida que a proporção entre HB β CD e CCP aumenta, ocorre a quebra das micelas, formando estequiometria 1:1. Essa etapa também apresentou um valor endotérmico de entalpia ($\Delta_{int}H^\circ > 0$), devido à quebra das micelas e das estruturas de solvatação.

A variação positiva de entropia indica que moléculas com regiões hidrofóbicas como o CCP, tendem a apresentar “efeito hidrofóbico” no processo de inclusão, onde ocorre quebra da estrutura de solvatação dos grupos funcionais do CCP com subsequente liberação de moléculas de água. Esse comportamento foi relatado por (BENKO; KIRÁLY, 2012) ao

investigarem a complexação de β CD com vários surfactantes com a cadeia alquílica apresentando o mesmo comprimento, mas com o grupo hidrofílico diferente. Neste estudo, os autores verificaram que o principal termo que rege o processo de complexação origina-se do efeito hidrofóbico.

O valor de constante de equilíbrio aparente $K_a = 4,26 \times 10^4 \pm 0,30 \times 10^4$ também sugeriu a ocorrência de fortes interações intermoleculares entre os compostos.

Na Figura 27 (b) está apresentada a curva de titulação final após a subtração do branco de pCD em CCP e na Tabela 11 estão apresentados os valores termodinâmicos de interação. Os parâmetros termodinâmicos obtidos demonstram que o processo de complexação do sistema CCP/pCD apresentou duas estequiometrias. Para a estequiometria 1:2, visto que o “N” encontrado foi de $0,60 \pm 0,02$, significa que se têm aproximadamente um monômero de pCD para duas moléculas de CCP. Brocos et al. (2010) ao estudarem a complexação de dodecil sulfato de sódio em CDs através de simulação de dinâmica molecular, demonstraram que é possível formar complexos estáveis com estequiometria 1:2.

Tabela 11 - Parâmetros termodinâmicos de interação cloreto de cetilpiridínio com poli- β -ciclodextrina, onde $Tint\Delta S^\circ$ (Termo entrópico da interação) a 298,15 K

Estequiometria	N (mol/g)	K	$\Delta_{int}G^\circ$ (cal/mol)	$\Delta_{int}H^\circ$ (cal/mol)	$T\Delta_{int}S^\circ$ (cal/mol)
N ₁	$0,60 \pm 0,02$	$1,21 \times 10^4 \pm 0,19 \times 10^4$	-5570,6	$-1190 \pm 46,0$	+ 4380,6
N ₂	$2,08 \pm 0,01$	$4,7 \times 10^5 \pm 1,2 \times 10^5$	-7741,6	$+155,4 \pm 4,4$	+ 7897

Fonte: a autora (2023).

Pode-se observar que a complexação foi um processo exotérmico ($\Delta_{int}H^\circ < 0$), favorecido por entropia ($\Delta_{int}S^\circ > 0$) e com uma constante de equilíbrio ($K_a = 1,21 \times 10^4 \pm 0,19 \times 10^4$) moderada.

A força motriz da formação de complexos de inclusão surfactante- β CD é resultado de diversas etapas simultâneas, cujos papéis mais importantes são desempenhados pelo efeito hidrofóbico, a liberação de moléculas de água de alta energia da cavidade β CD e as interações de van der Waals entre a β CD e as moléculas de surfactante (BENKO; KIRÁLY, 2012; MIRANDA et al., 2020).

Um processo exotérmico indica quebra de interações intermoleculares e formação de interações mais estáveis do que as anteriores. A entrada do hóspede no hospedeiro é precedida pela liberação de moléculas de água de alta energia naturalmente incorporadas em seu interior. Em outras palavras, ocorre a substituição das moléculas de água de elevada entalpia por uma molécula hóspede compatível, com a qual realiza extensas interações (AGNES et al., 2017).

O valor negativo de entalpia em sistema CCP/ β CD deve se originar de interações íon-dipolo do grupo piridínio do CCP com elétrons não ligados de átomos de oxigênio na cavidade da β CD e pelas interações de Van der Waals cooperativas entre a cadeia alifática do CCP, conforme já relatado em outros trabalhos (AGNES et al., 2017; BENKO; KIRÁLY, 2012; MIRANDA et al., 2020). Já o aumento da entropia ($\Delta_{inh}S^o > 0$) é devido à quebra da estrutura de hidratação do CCP e pela liberação de moléculas de água incorporadas na cavidade da β CD, as quais ganham graus de liberdade rotacionais e translacionais.

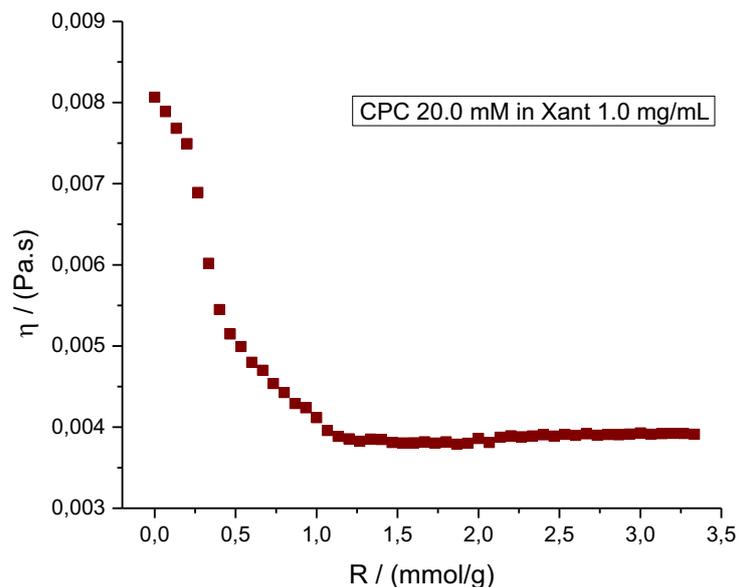
Já para a estequiometria 2:1, onde o “*N*” encontrado foi de $2,08 \pm 0,01$, significa que se têm 2 monômeros de pCD para cada uma molécula de CCP. Brocos et al. (2010) também relataram estequiometria 2:1 ao estudarem o processo de complexação de dodecil sulfato de sódio (surfactante aniônico) em CDs, inclusive, elegendo-o como o mais promissor entre os complexos preparados por eles.

Observa-se que o processo é endotérmico, o que significa que as interações no composto de inclusão são de menor estabilidade. Todavia, apresentou uma alta constante de equilíbrio ($K_a = 4,7 \times 10^5 \pm 1,2 \times 10^5$), a qual mostra uma afinidade de ordem de grandeza maior, em relação à estequiometria 1:2, em virtude de um termo entrópico significativamente maior, possivelmente devido a uma dessolvatação mais eficaz durante a inclusão (AGNES et al., 2017).

5.1.5 Determinação dos parâmetros reológicos do complexo CCP/XANT

A formação do complexo CCP/XANT foi também investigada através da titulação de 2500 μ L de solução CCP a 20 mM (50 titulações de 50 μ L) em 15 mL de solução de XANT a 1 mg/mL, à 25 °C e $\varphi = 1000 \text{ s}^{-1}$. A Figura 28 mostra que a viscosidade sofre uma queda desde as primeiras titulações, até a razão 1,0 mmol/g, a partir de quando adquire valores praticamente constantes, corroborando com os resultados de ZP e ITC.

Figura 27 - Curva de titulação viscosimétrica de CCP a 20 mM em xantana 1,0 mg/mL à 25 °C e $\varphi = 1000 \text{ s}^{-1}$



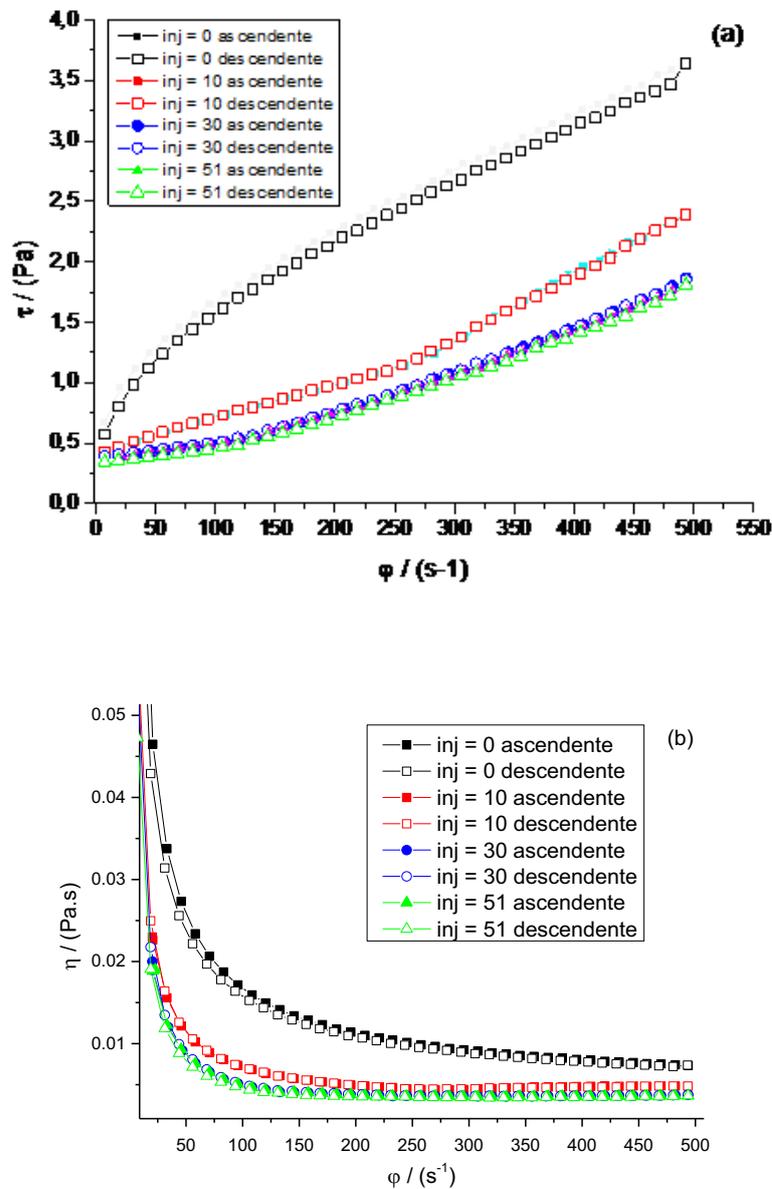
Fonte: a autora (2023).

A molécula de XANT apresenta grupos hidrofílicos ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ e $-\text{COO}^-$) que possibilitam a formação de ligações de hidrogênio ou interações íon-dipolo com a água e com outras moléculas, resultando em elevada viscosidade. Esses grupos carregados possibilitam também interações intermoleculares como repulsões eletrostáticas entre as cadeias laterais, as quais se mostram altamente estendidas, capazes de realizar ligações de hidrogênio, formando grandes agregados moleculares (WANG et al., 2009).

À medida que o CCP é titulado, a forte interação eletrostática com a XANT leva à formação espontânea de um precipitado. Ocorre então, rompimento dos grandes agregados supramoleculares devido à diminuição da área superficial da macromolécula e consequente diminuição das interações intermoleculares e com o solvente, resultando na redução da viscosidade.

Curvas de fluxo e de viscosidade do sistema CCP/XANT a 25 °C e taxas de cisalhamento entre 1 a 500 s^{-1} e de 500 a 1 s^{-1} , foram construídas comparando o comportamento reológico durante as seguintes injeções: de 0 a 10, de 10 a 30 e de 30 a 50, como pode ser observado na Figura 29.

Figura 28 - Curva de a) fluxo e b) viscosidade do sistema CCP/XANT a 25 °C ($1 \leq \phi \leq 500$)



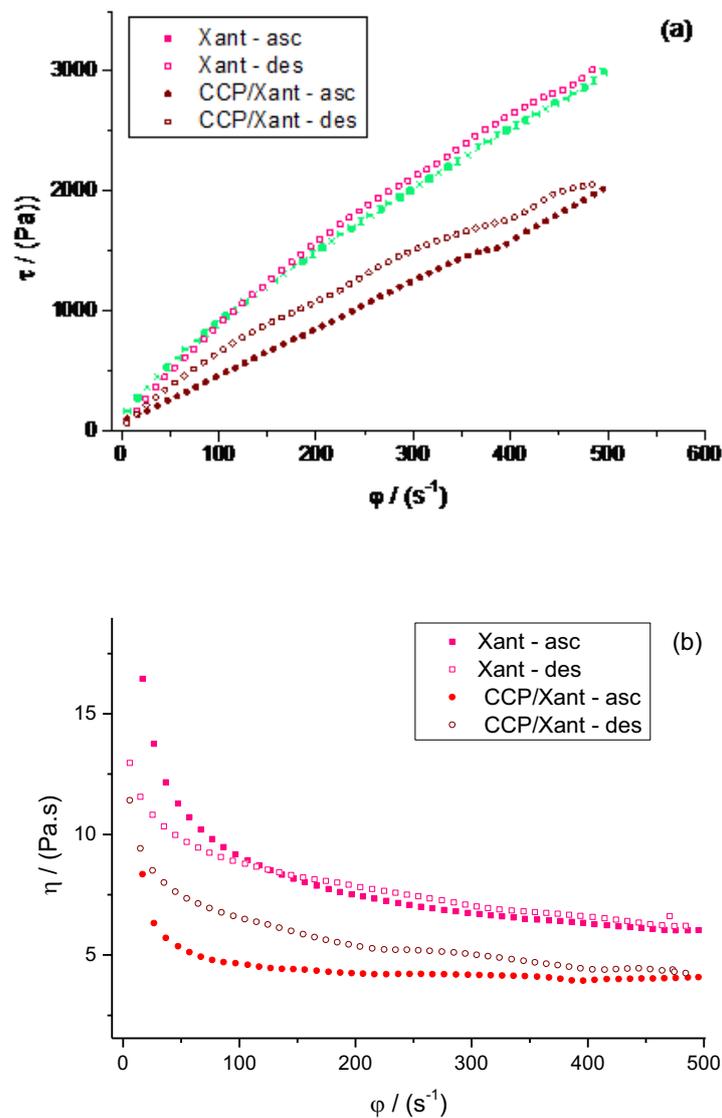
Fonte: a autora (2023).

Os resultados mostraram que a maior queda de viscosidade aconteceu após as 10 primeiras injeções, inclusive, com a curva já assumindo um perfil próximo ao newtoniano. As medidas após 30 titulações de CCP demonstraram mais uma redução nos valores de viscosidade. Já as medidas após as 51 titulações não apresentaram praticamente nenhuma diferença no perfil das curvas de fluxo e de viscosidade. Esse fato sugere que até a 30ª titulação já tenham ocorrido todas as interações das moléculas de CCP com os sítios da macromolécula de XANT.

A suspensão CCP/XANT na proporção ($[CCP]/C_{XANT} = 3,33 \text{ mmol/g}$) resultante das 50 titulações de CCP a 20 mM em XANT 1,0 mg/mL foi submetida à cisalhamento estacionário de 1 a 500 s^{-1} para analisar o seu comportamento de fluxo, comparando-se com o comportamento da solução de XANT (1,0 mg/mL), conforme apresentado na Figura 30 (a e b).

Os resultados mostraram que a viscosidade diminuiu significativamente com a complexação, aumentando o comportamento newtoniano do fluido, uma vez que a viscosidade assume valores aproximadamente constantes Figura 30 (b).

Figura 29 - Curva de a) fluxo e b) viscosidade de solução xantana e do complexo CCP/XANT, à $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ($1 \leq \dot{\gamma} \leq 500 \text{ s}^{-1}$)



Fonte: a autora (2023).

5.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.2.1 Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana

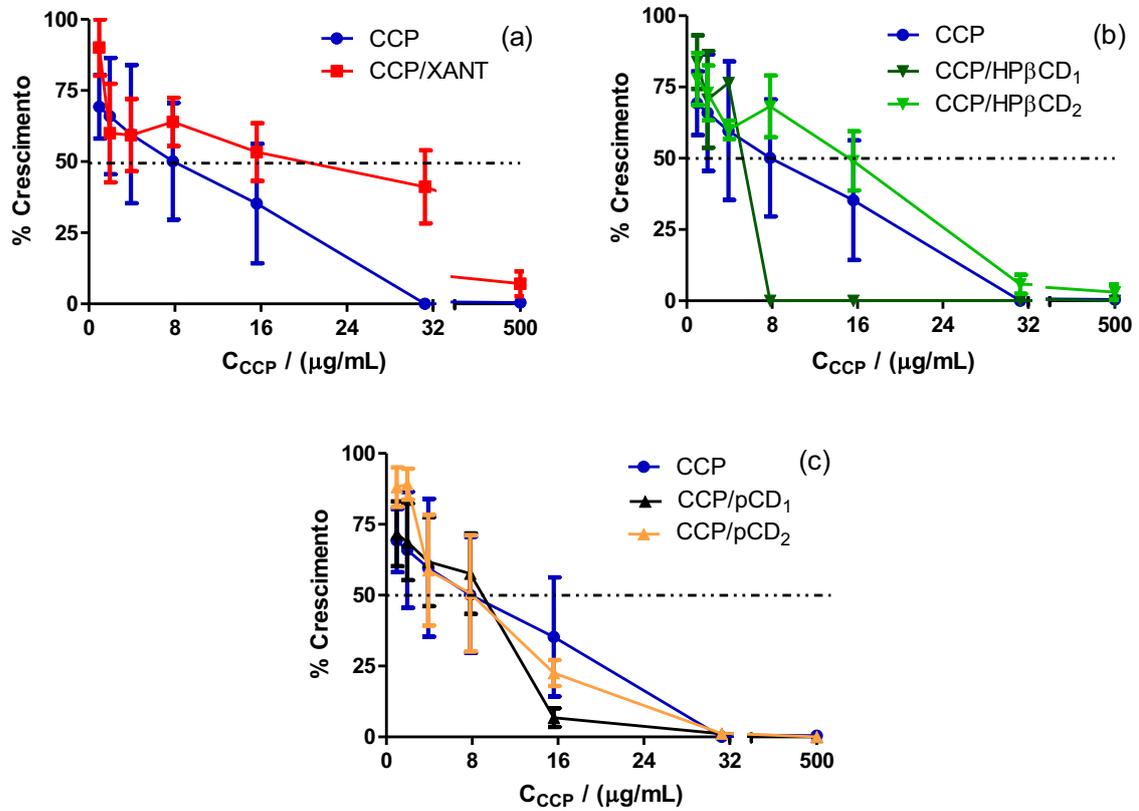
Foram realizados ensaios microbiológicos para se avaliar se a presença de XANT, HP β CD e pCD influenciam na efetividade do CCP contra quatro linhagens de *S. aureus* (uma ATCC e três clínicas) e uma linhagem de *S. mutans*.

As Figuras (31 a 34) mostram os resultados obtidos na determinação da CIM e da DL_{50} para as linhagens de *S. aureus*: ATCC 29923 (31), 170 (32), 15 (33) e 1369061 (34). Já os resultados da CIM e da DL_{50} para a linhagem de *S. mutans* AU 159 estão representados na Figura (35). Em todas as figuras, consideram-se os sistemas: CCP/XANT (a), CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ (b) e CCP/pCD₁; CCP/pCD₂ (c).

Os resultados de CIM frente às linhagens de *S. aureus* e *S. mutans* estão apresentados na Tabela 12, os quais mostram que a CIM encontrada para o CCP frente às linhagens de *S. aureus* ATCC 29923, 170 e 1369061 foi 32 e frente à linhagem 15 foi 8. É possível perceber que a CIM do CCP complexado na proporção molar 1:1 nos CIs (CCP/HP β CD₁ e CCP/pCD₁) foi menor que a CIM do CCP puro em todas as linhagens de *S. aureus*. Os CIs na proporção molar 1:2 (CCP/HP β CD₂ e CCP/pCD₂) demonstraram redução de CIM para a linhagem 1369061.

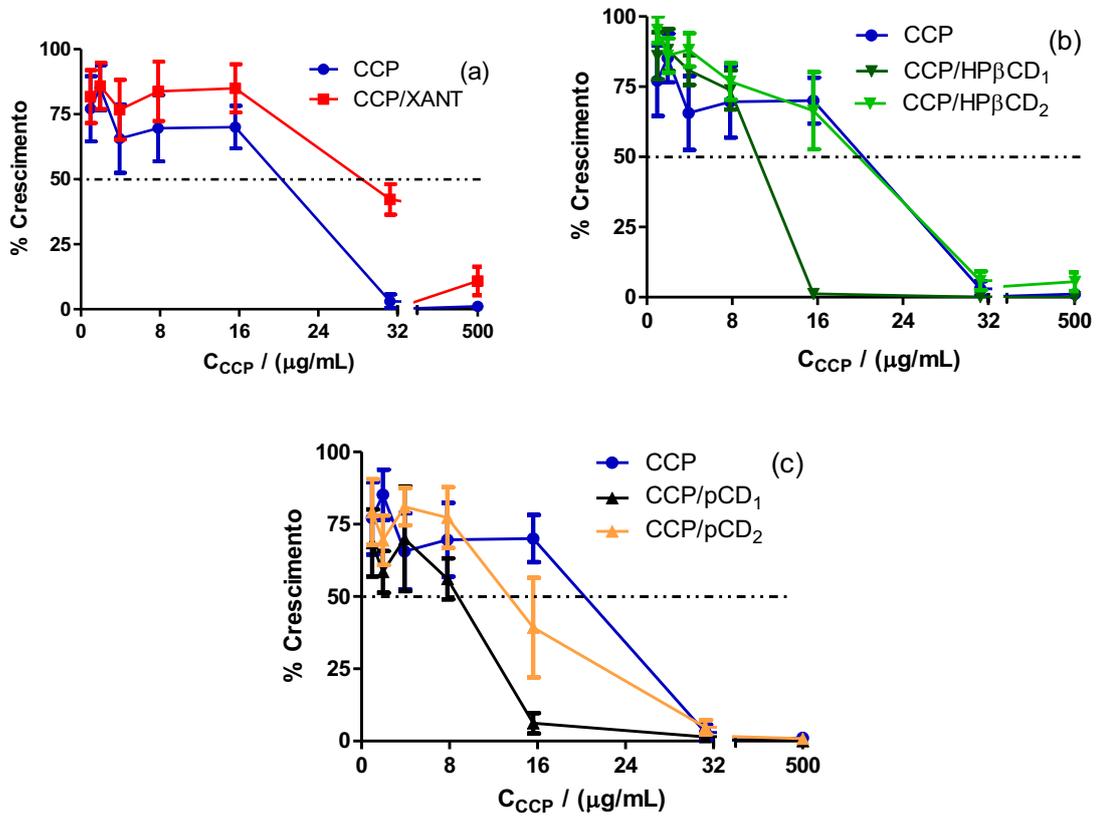
Para *S. mutans* o valor de CIM encontrado para o CCP puro foi 2 μ g/mL. Valores semelhantes foram encontrados por Yeon e Young (2019), ao avaliar a suscetibilidade de *S. mutans* ao antimicrobiano, os quais ficaram na faixa de 0,06 – 1,95 μ g/mL. De acordo com a Tabela 12, nenhum dos sistemas apresentou redução de CIM.

Figura 30 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra linhagem de *S. aureus* ATCC 29923, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ e (c) CCP/pCD₁; CCP/pCD₂



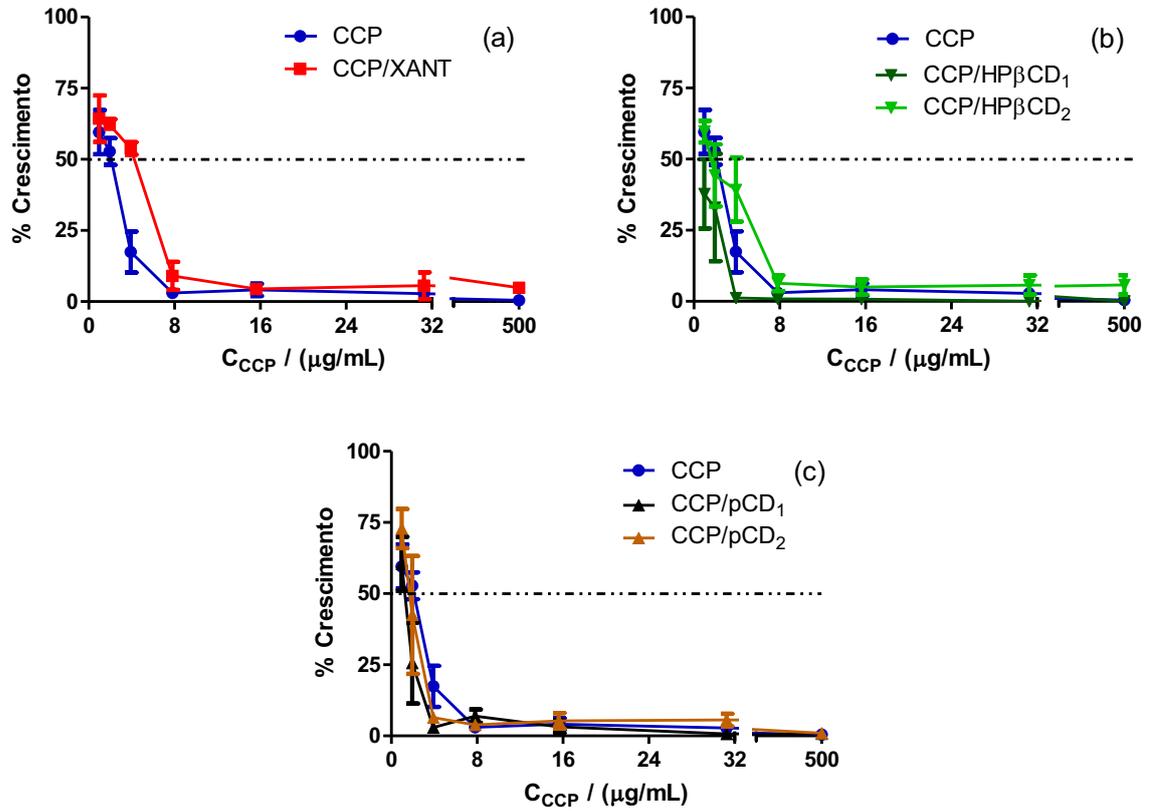
Fonte: a autora (2023).

Figura 31 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica *S. aureus* 170, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ e (c) CCP/pCD₁; CCP/pCD₂



Fonte: a autora (2023).

Figura 32 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica *S. aureus* 15, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ e (c) CCP/pCD₁; CCP/pCD₂



Fonte: a autora (2023).

Figura 33 - Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica *S. aureus* 1369061, do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ e (c) CCP/pCD₁; CCP/pCD₂

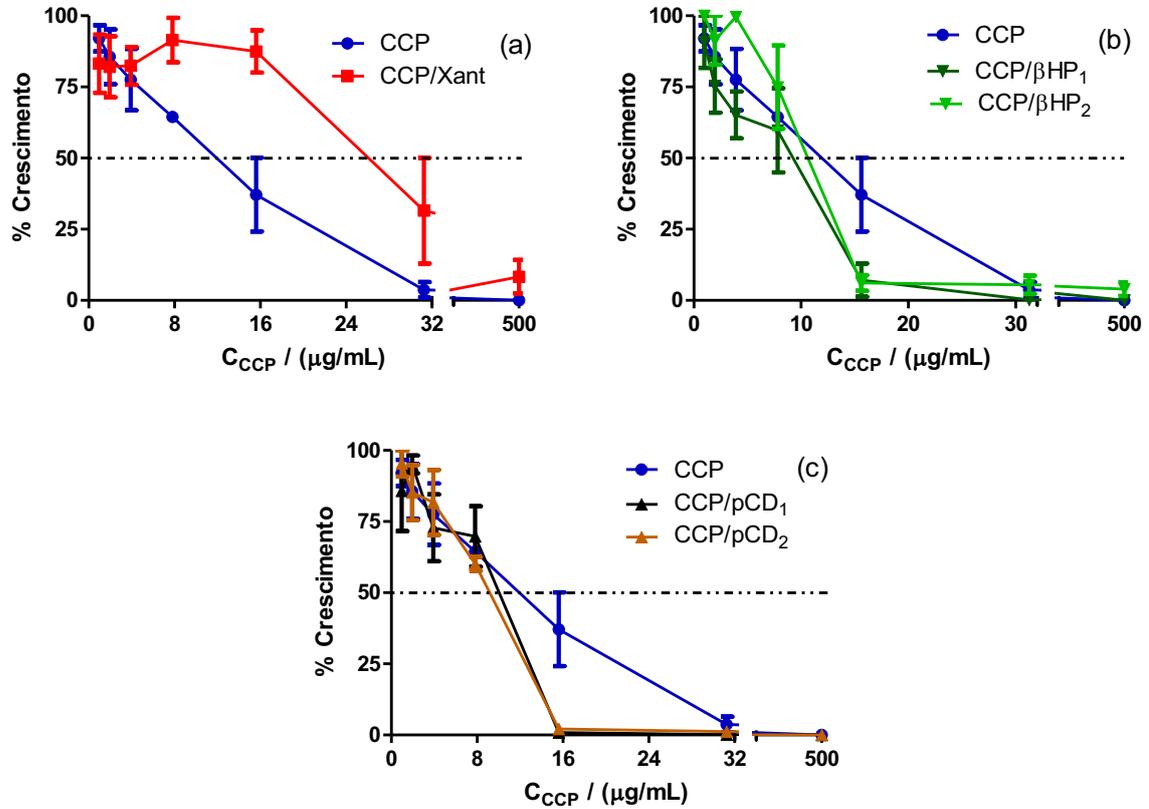
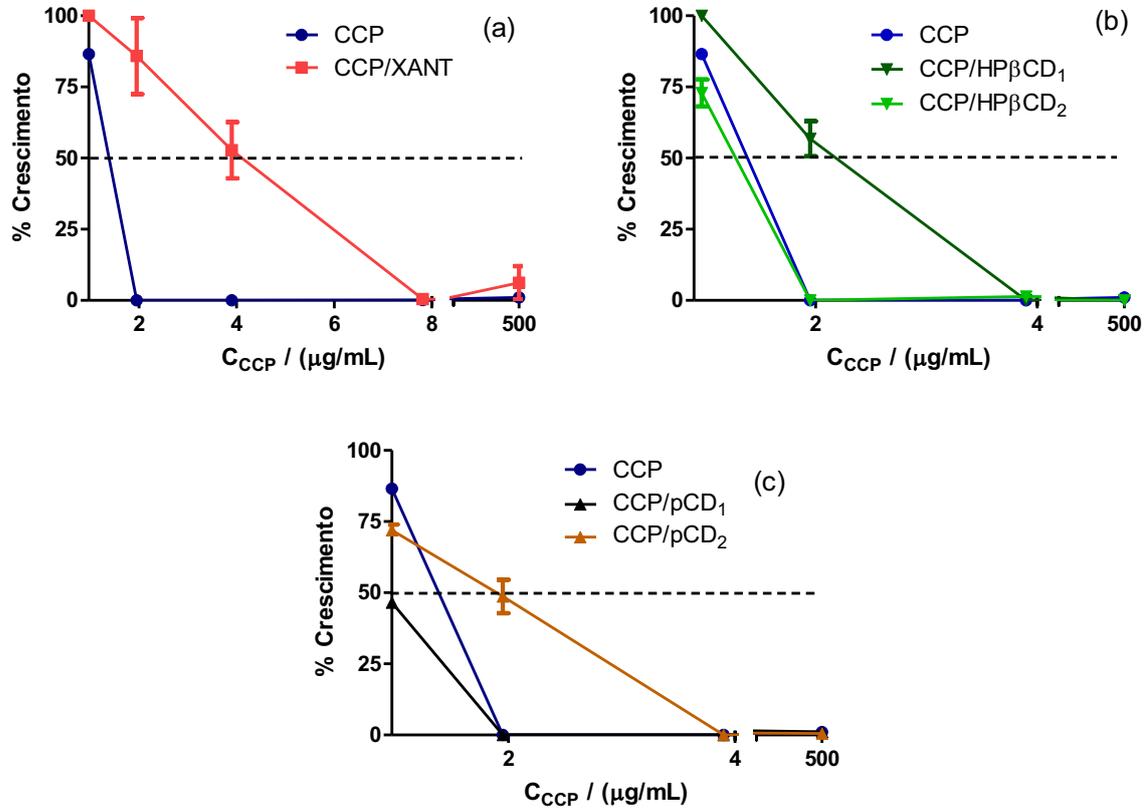


Figura 34- Determinação da concentração inibitória mínima e da dose letal mediana, contra a cepa clínica *S. mutans* UA 159 do CCP e dos sistemas: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ e (c) CCP/pCD₁; CCP/pCD₂



Fonte: a autora (2023).

Tabela 12 - Determinação da concentração inibitória mínima do CCP puro e complexado contra as quatro linhagens de *S. aureus* (ATCC 29923, 170, 15 e 1369061) e a linhagem AU 159 de *S. mutans*

Sistemas	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> ATCC 29923	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> 170	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> 15	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> 1369061	$\mu\text{g/mL}$ <i>S. m.</i> AU 159
CCP	32	32	8	32	2
CCP/XANT	500	125	8	62,5	8
CCP/HP β CD ₁	8	16	4	16	4
CCP/HP β CD ₂	32	32	8	16	2
CCP/pCD ₁	16	16	4	16	2
CCP/pCD ₂	32	32	8	16	4

Fonte: a autora (2023).

Tabela 13 - Determinação da dose letal mediana do CCP puro e complexado contra as quatro linhagens de *S. aureus* (ATCC 29923, 170, 15 e 1369061) e a linhagem AU 159 de *S. mutans*

Sistemas	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> ATCC 29923	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> 170	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> 15	$\mu\text{g/mL}$ <i>S.a.</i> 1369061	$\mu\text{g/mL}$ <i>S. m.</i> AU 159
CCP	8	20	2	11,5	1,5
CCP/XANT	20	28	4	26	4
CCP/HP β CD ₁	5	10	1	9	2
CCP/HP β CD ₂	15	19	1,5	10,5	1
CCP/pCD ₁	9	9	1	10	1
CCP/pCD ₂	8	13	1,5	9	2

Fonte: a autora (2023).

Além da determinação da CIM dos complexos, foi também determinada a DL_{50} para todos eles, comparando-se com o efeito do CCP puro, conforme as Figuras (31 a 35) e a Tabela 13. CCP/HP β CD₁ apresentou redução da DL_{50} para todas as linhagens de *S. aureus*. Já os CCP/HP β CD₂, CCP/pCD₁ e CCP/pCD₂ mostraram redução da DL_{50} para três linhagens, sendo elas, 170, 15 e 1369061. Contra *S. mutans*, os sistemas que apresentaram discreta redução da DL_{50} foram CCP/HP β CD₂ e CCP/pCD₁.

De todos os sistemas estudados, CCP/HP β CD₁ foi o mais promissor contra *S. aureus*, uma vez que ele proporcionou redução tanto na CIM quanto na DL_{50} do CCP, frente às quatro linhagens. Logo após, está o sistema CCP/pCD₁ que também apresentou redução da CIM frente a todas as linhagens de *S. aureus* e da DL_{50} em três delas. Além disso, CCP/pCD₁ também apresentou redução da DL_{50} frente à linhagem de *S. mutans* estudada.

Essa maior atividade antimicrobiana de CCP/HP β CD₁ e CCP/pCD₁ contra *S. aureus* provavelmente seja devido às novas interações intermoleculares envolvendo os grupos hidroxila da β CD com a membrana da célula bacteriana. De acordo com Suárez e colaboradores (2014) essa adesão medeia o efeito sinérgico do fármaco/ β CD com as interações iônicas que pode se formar entre um fármaco catiônico e uma superfície celular aniônica. A possibilidade de redução da dose é relevante, uma vez que pode contribuir para uma menor incidência de efeitos adversos ao paciente e uma menor exposição do microrganismo ao antimicrobiano, diminuindo as possibilidades do desenvolvimento de resistência ao mesmo (MIRANDA et al., 2020).

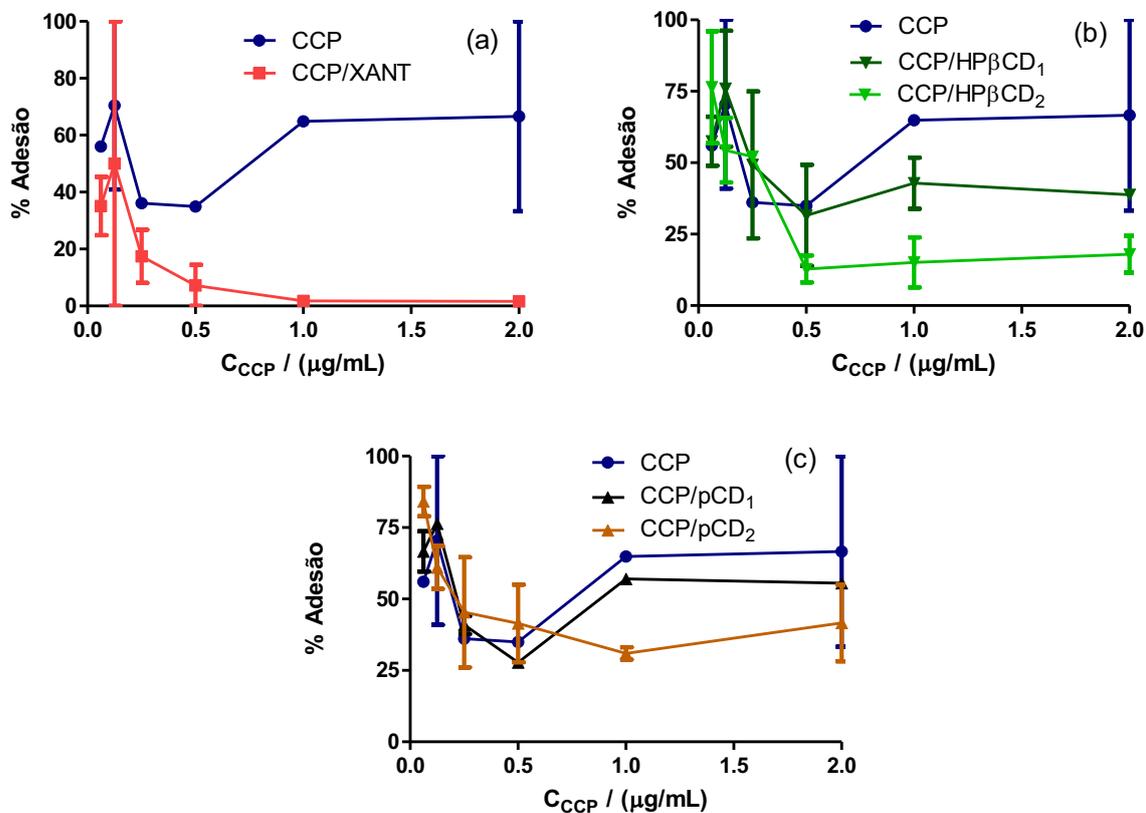
Os resultados mostraram que ambos os sistemas não são linhagem-dependente, os quais apresentaram gráficos com perfis semelhantes para a maioria das linhagens. O fato de um composto ter ação para várias linhagens da mesma espécie é o que evidencia que a ação é sobre a espécie. É vantajoso quando é possível se testar linhagens distintas como foi feito neste trabalho, frente à *S. aureus*, incluindo uma linhagem padrão (ATCC), com resposta conhecida a várias provas laboratoriais e as outras linhagens clínicas. Ou seja, isso contribui para evitar a possibilidade de uma resposta linhagem-específica (MIRANDA et al., 2020).

Como pode ser observado, não é interessante aumentar a concentração de ciclodextrina em relação à concentração de CCP e que a proporção molar 1:1 já é suficiente para formar os complexos de inclusão, visto que os sistemas nesta proporção apresentaram maior eficácia na ação antimicrobiana do CCP.

5.2.2 Inibição/estimulação da adesão de *S. mutans*

Foi realizado teste para quantificação da inibição ou estimulação na capacidade de adesão da linhagem UA 159 de *S. mutans* à superfície da microplaca, utilizando 6 concentrações subinibitórias de CCP, as quais variaram entre 1 a 0,062 µg/mL. Os resultados são mostrados na Figura (36) para os sistemas: CCP/XANT (a), CCP/HPβCD₁; CCP/HPβCD₂ (b) e CCP/pCD₁; CCP/pCD₂ (c).

Figura 35- Estimulação/Inibição da adesão de *S. mutans* UA 159 em concentrações subinibitórias de: (a) CCP/XANT, (b) CCP/HP β CD₁; CCP/HP β CD₂ e (c) CCP/pCD₁; CCP/pCD₂



Como pode ser observado na Figura 36, os cinco complexos testados apresentaram maior efetividade na inibição da adesão de *S. mutans* em relação ao CCP puro, sobretudo CCP/XANT. É importante salientar que os surfactantes agem não apenas inibindo o crescimento microbiano, mas também são capazes de inibir a aderência de microrganismos patogênicos à superfícies sólidas ou locais infecciosos (SANTOS et al., 2016).

Já foi relatado que a atividade antibacteriana e antibiofilme de uma molécula nem sempre são coincidentes. O agente antimicrobiano pode prevenir a formação de biofilme por um mecanismo específico, por exemplo, através da interferência na adesão ou na maquinaria de comunicação bacteriana que promove a produção da matriz compacta (PIRAS et al., 2019). A inclusão do fármaco antibiofilme pela ciclodextrina ocorre através de interações físico-químicas (forças fracas de van der Waals, ligação hidrofóbica e de hidrogênio). Uma vez formado o CI, o fármaco é carregado pela ciclodextrina e pode ser entregue no local alvo. Vários fármacos antibiofilme já foram conjugados com ciclodextrina e usados para erradicar as bactérias patogênicas formadoras de biofilme (KHAN; KHAN; KIM, 2018).

Semelhantemente, os resultados deste trabalho sugerem que o CCP encapsulado pela CD mostrou inibição da adesão de *S. mutans* como resultado de liberação sustentada do fármaco.

Já foi relatado que a combinação de materiais poliméricos e antimicrobianos, como compostos de amônio, aumenta a atividade antibiofilme. Essa prevenção depende das interações entre os polímeros e a estrutura dentária. Os sistemas poliméricos penetram na estrutura do biofilme e liberam o antimicrobiano no local alvo para destruir o biofilme e inibir a colonização microbiana (ROKAYA et al., 2018).

Calixto e colaboradores (2018) desenvolveram um sistema líquido-cristalino bioadesivo com propriedades gelificantes in situ para prevenir a formação de biofilme de *S. mutans*. Os resultados obtidos por eles mostraram que algumas formulações apresentaram maiores valores de bioadesão, os quais podem ser explicados pelas suas propriedades reológicas. Segundo os autores, o aumento da viscosidade e das características elásticas contribui para o aumento do tempo de residência da formulação, resultando em maior efeito contra a formação de biofilme por *S. mutans*.

O fortalecimento das ligações físico-químicas ocorre em alguns minutos, levando à adesão irreversível devido à remoção progressiva da água interfacial, a qual permite uma maior aproximação entre o microrganismo e a superfície. Tal remoção pode ocorrer mais facilmente em superfícies de substrato hidrofóbicas do que em superfícies hidrofílicas. Devido ao pequeno tamanho molecular e à baixa viscosidade da água, a remoção progressiva da água interfacial provavelmente ocorre em segundos a partir do primeiro contato de uma bactéria com a superfície do substrato (CARNIELLO et al., 2018). Os dados do presente estudo corroboram com os autores visto que a inibição de adesão observada para o sistema CCP/XANT pode ser devido ao caráter viscoso da solução, a qual tende a se adsorver a superfície do substrato, dificultando a remoção da água interfacial. A XANT é um biopolímero hidrofílico, capaz de reter grande quantidade de água em sua rede tridimensional (ROKAYA et al., 2018). Segundo Zheng e colaboradores (2021), o crescimento do biofilme pode ser facilitado em condições fluidas, bem como o fluxo de cisalhamento melhora a formação de biofilme, aumentando a produção de EPS e a resistência da matriz (HOU et al., 2018).

Vários filmes poliméricos têm sido testados para proteger fisicamente os dentes contra a erosão, evitando o contato direto do ambiente ácido da cavidade oral com os dentes (ROKAYA et al., 2018). Gracia e colaboradores (2010), constataram efeito anti-erosão ao realizarem um pré-tratamento do esmalte humano saudável com um sistema polimérico

combinado que compreendia 0,20% de carboximetilcelulose (CMC), 0,010% de goma xantana e 0,75% de copovidona, isoladamente ou em combinação com flúor.

Existem várias formulações de uso tópico, comumente empregadas para controlar a formação de biofilme dentário, como enxaguantes bucais, géis, dentifrícios e pastilhas. Contudo, essas formulações geralmente promovem retenção limitada do fármaco na cavidade oral e tendem a ser rapidamente removidas, podendo afetar a eficácia do agente ativo presente em sua composição, como os antimicrobianos. Portanto, o desenvolvimento de um nanossistema que proporcione liberação controlada do fármaco, o retendo por mais tempo na mucosa é muito vantajoso.

Como já mencionado, o processo de adesão bacteriana é modulado pelas propriedades do meio circundante, especialmente o pH e a força iônica (STERZENBACH et al., 2020). Sendo assim, a redução da aderência de *S. mutans* à superfície observada para o sistema CCP/XANT neste estudo pode também ser devido ao aumento da força iônica conferido pela presença de contraíons Na^+/K^+ e Cl^- , como mostra a curva de condutividade elétrica, Figura (22b). Uma vez que já foi relatado anteriormente que a força iônica atua diminuindo a adesão inicial de bactérias imóveis à superfície do substrato (ZHENG et al., 2021).

6. CONCLUSÕES

A complexação do antimicrobiano CCP em XANT, HP β CD e pCD foi monitorada e caracterizada tanto no estado sólido quanto em solução. Após o preparo dos complexos, foram realizados ensaios microbiológicos utilizando linhagens de *S. aureus* e *S. mutans* a fim de comparar a ação antimicrobiana do CCP complexado com o CCP puro.

As análises no estado sólido evidenciaram que houve a complexação, uma vez que foram estabelecidas novas interações entre os compostos. Os espectros de FTIR dos três sistemas apresentaram diferenças significativas nos padrões de bandas em relação aos precursores. Ocorreu aumento da estabilidade térmica do CCP nos três complexos, o qual foi mostrado nas análises de TGA e DTA.

O estudo de complexação por ITC, também confirmou as interações em solução e permitiu identificar a proporção 1 mmol/g para CCP/XANT. As titulações de solução CCP em dispersões de XANT desencadearam os seguintes efeitos gerais: a) diminuição no diâmetro hidrodinâmico das cadeias XANT dispersas, b) redução (em módulo) dos valores médios de ZP e c) redução da viscosidade aparente.

A calorimetria de titulação isotérmica também confirmou a complexação em solução de CCP em CDs. As titulações de solução de HP β CD ou pCD em solução de CCP acarretaram redução no tamanho das partículas do CCP e aumento dos valores de ZP, uma vez que as moléculas de CCP, dissociadas de seus contraíons, se complexam em CDs formando uma estrutura carregada em solução aquosa.

Nos ensaios antimicrobianos de CCP/HP β CD e CCP/pCD foi possível perceber que houve redução da CIM e da DL_{50} do CCP complexado em relação ao CCP puro frente às linhagens de *S. aureus*. De todos os sistemas estudados, CCP/HP β CD₁ parece ser o mais promissor, seguido de CCP/pCD₁ mostrando que a proporção molar 1:1 já é suficiente para formar os complexos de inclusão. Os resultados mostraram que ambos os sistemas não são linhagem-dependente, evidenciando que a ação é sobre a espécie. Portanto, esses complexos se mostraram promissores para serem utilizados em sistemas de liberação controlada de CCP para melhorar a sua atividade antimicrobiana.

Os ensaios de inibição/adesão de *S. mutans* mostraram que o complexo CCP/XANT bem como CCP/HP β CD e CCP/pCD apresentaram maior inibição da adesão de *S. mutans* em relação ao CCP puro. O complexo CCP/XANT foi o que apresentou os resultados mais promissores para ser utilizado em formulações inibitórias da formação de biofilme por *S. mutans*.

REFERÊNCIAS

- ABBASI MOUD, A. Rheology and microscopy analysis of polymer–surfactant complexes. **Colloid and Polymer Science**, v. 300, n. 7, p. 733-762, 2022.
- ABEDFAR, A.; HOSSININEZHAD, M. Overview of the most important characterization of exopolysaccharides produced by probiotics bacteria and their biological function. **Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 10, n. 11, p. 47-55, 2016.
- AGNES, M. et al. Designed positively charged cyclodextrin hosts with enhanced binding of penicillins as carriers for the delivery of antibiotics: The case of oxacillin. **International journal of pharmaceutics**, v. 531, n. 2, p. 480-491, 2017.
- AHMAD, S. et al. A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 136, p. 870-890, 2019.
- AIASSA, V. et al. Cyclodextrins and Their Derivatives as Drug Stability Modifiers. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 8, p. 1074, 2023.
- ALAM, S. S. et al. Poly (allylamine)/tripolyphosphate coacervates for encapsulation and long-term release of cetylpyridinium chloride. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 629, p. 127490, 2021.
- ALMEIDA, Kátia Maria de Oliveira. **Caracterização reológica e coloidal de xantana biossintetizada a partir de glicose e uso como sistema de liberação controlada de doxiciclina**. 2018. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Juiz de Fora Campus Governador Valadares, Governador Valadares, 2018.
- ALMEIDA, K. M. et al. Caracterização reológica e coloidal de xantana biossintetizada a partir de glicose. 2021.
- ALVES, M. R. A. et al. Study of the interaction between glucosamine hydrochloride and sodium dodecylsulphate micelles using conductometric, isothermal calorimetry, zeta-potential titrations, and NMR NOESY. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 38, n. 2, p. 248-259, 2014.
- BAKER, J.; FAUSTOFERRI, R.; QUIVEY JR, R. Acid-adaptive mechanisms of *Streptococcus mutans*—the more we know, the more we don't. **Molecular oral microbiology**, v. 32, n. 2, p. 107, 2017.
- BENKO, M.; KIRÁLY, Z. Thermodynamics of inclusion complex formation of β -cyclodextrin with a variety of surfactants differing in the nature of headgroup. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 54, p. 211-216, 2012.
- BHAGYASHRI, P.; YERUKOLA, P. Xanthan Gum Market by Form (Powder, Liquid), by Grade (Food Grade, Industrial Grade, Pharmaceutical Grade, Others), by End Use Industry (Food and Beverage, Oil and Gas, Pharmaceutical, Personal Care and Cosmetics, Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2023-2032. Out. 2023. Acessado em 19

dez. 2023. Online. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/request-sample/2275>.

BHATTA, R. et al. Swelling and mucoadhesive behavior with drug release characteristics of gastroretentive drug delivery system based on a combination of natural gum and semi-synthetic polymers. **Marmara Pharmaceutical Journal**, v. 22, n. 2, p. 286-298, 2018.

BROCOS, P. et al. Similarities and Differences Between Cyclodextrin– Sodium Dodecyl Sulfate Host– Guest Complexes of Different Stoichiometries: Molecular Dynamics Simulations at Several Temperatures. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 39, p. 12455-12467, 2010.

BUSHEHAB, N. M. E. et al. Oral Hygiene Practices and Awareness of Pregnant Women about the Effects of Periodontal Disease on Pregnancy Outcomes. **International Journal of Dentistry**, v. 2022, 2022.

BRUNCHI, C.-E. et. al. Some properties of xanthan gum in aqueous solutions: effect of temperature and pH. **Journal of Polymer Research**, v. 23, p. 1-8, 2016a.

BRUNCHI, C.-E. et. al. Some properties of xanthan gum in aqueous solutions: effect of temperature and pH. **Journal of Polymer Research**, v. 23, n. 7, p. 123, 2016b.

CAGGIANIELLO, G.; KLEEREBEZEM, M.; SPANO, G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 9, p. 3877-3886, 2016.

CAGIL, E. M. Production and characterization of a new pH-responsive shellac system for controlled drug release. **Journal of Molecular Structure**, v. 1217, p. 128382, 2020.

CAVALCANTI, I. D. L. et al. ISOTHERMAL TITRATION CALORIMETRY (ITC) AS A PROMISING TOOL IN PHARMACEUTICAL NANOTECHNOLOGY. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 123063, 2023.

CELENZA, G. et al. In vitro antimicrobial activity of pannarin alone and in combination with antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **Phytomedicine**, v. 19, n. 7, p. 596-602, 2012.

CALIXTO, G. M. F. et al. Development and characterization of p1025-loaded bioadhesive liquid-crystalline system for the prevention of *Streptococcus mutans* biofilms. **International Journal of Nanomedicine**, p. 31-41, 2018.

CARNIELLO, V. et al. Physico-chemistry from initial bacterial adhesion to surface-programmed biofilm growth. **Advances in colloid and interface science**, v. 261, p. 1-14, 2018.

CARNEIRO, S. B. et al. Cyclodextrin–drug inclusion complexes: In vivo and in vitro approaches. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 3, p. 642, 2019.

CETIN BABA OGLU, H. et al. Encapsulation of clove essential oil in hydroxypropyl beta-cyclodextrin for characterization, controlled release, and antioxidant activity. **Journal of food processing and preservation**, v. 41, n. 5, p. e13202, 2017.

CHEN, M.-C. et al. Recent advances in chitosan-based nanoparticles for oral delivery of macromolecules. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 6, p. 865-879, 2013.

CHEN, W. et al. Magnetic/pH-sensitive double-layer microrobots for drug delivery and sustained release. **Applied Materials Today**, v. 19, p. 100583, 2020.

CHEN, Z. et al. Sustained and controlled release of herbal medicines: The concept of synchronized release. **International journal of pharmaceutics**, v. 560, p. 116-125, 2019.

CORTES, H et al. Xanthan gum in drug release. **Cellular and Molecular Biology**, v. 66, n. 4, p. 199-207, 2020.

COSTA, S. N. O.; PINHO, A. S.; SANTOS, E. D. A. Caracterização física, química e biológica da goma xantana comercial. **Revista de Engenharias da Faculdade Salesiana**, (10), p. 25-30, 2019.

COVA, T. F. et al. Cyclodextrin polymers and cyclodextrin-containing polysaccharides for water remediation. **Polysaccharides**, v. 2, n. 1, p. 16-38, 2021.

DAHLEN, G.; BASIC, A.; BYLUND, J. Importance of virulence factors for the persistence of oral bacteria in the inflamed gingival crevice and in the pathogenesis of periodontal disease. **Journal of clinical medicine**, v. 8, n. 9, p. 1339, 2019.

D'ARIA, F.; PAGANO, B.; GIANCOLA, C. Thermodynamic properties of hydroxypropyl- β -cyclodextrin/guest interaction: a survey of recent studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 147, n. 8, p. 4889-4897, 2022.

DE AQUINO, D. A. et al. Thermal behavior of cetylpyridinium hydrochloride and its association with sugar alcohols and flavoring agents: a preformulation study. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1-12, 2023.

DEL VALLE, E. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process biochemistry**, v. 39, n. 9, p. 1033-1046, 2004.

DENADAI, Â. M. et al. Self-assembly characterization of the β -cyclodextrin and hydrochlorothiazide system: NMR, phase solubility, ITC and QELS. **Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry**, v. 55, n. 1, p. 41-49, 2006.

DENADAI, A. M. et al. Chlorhexidine/losartan ionic pair binding and its nanoprecipitation: physico-chemical characterisation and antimicrobial activity. **Supramolecular Chemistry**, v. 24, n. 3, p. 204-212, 2012.

DENG, B.; SHI, Y. A reactive coarse-grained model for polydisperse polymers. **Polymer**, v. 98, p. 88-99, 2016.

DERKACH, S. R.; VORON'KO, N. G.; KUCHINA, Y. A. Intermolecular Interactions in the Formation of Polysaccharide-Gelatin Complexes: A Spectroscopic Study. **Polymers**, v. 14, n. 14, p. 2777, 2022.

DE SOUSA, H. C. et al. **Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados**. Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press, 2015.

DE SOUSA, V. et al. Antibacterial effect of mouthwashes against *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. **RSBO**, v. 18, n. 1, p. 44-51, 2021.

EREN, N. M.; SANTOS, P. H.; CAMPANELLA, O. Mechanically modified xanthan gum: Rheology and polydispersity aspects. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 475-484, 2015.

FARIAS, J. M. et al. Mouthwash containing a biosurfactant and chitosan: an eco-sustainable option for the control of cariogenic microorganisms. **International journal of biological macromolecules**, v. 129, p. 853-860, 2019.

FECHINE, G. J. M. **Polímeros biodegradáveis: tipos, mecanismos, normas e mercado mundial**. SciELO-Editora Mackenzie, 2013.

FERNÁNDEZ, M. et al. A Caracterização física, química e biológica da goma xantana comercial. Complex systems that incorporate cyclodextrins to get materials for some specific applications. **Carbohydrate research**, v. 480, p. 12-34, 2019.

FOLLIERO, V. et al. Rhein: A novel antibacterial compound against *Streptococcus mutans* infection. **Microbiological Research**, v. 261, p. 127062, 2022.

FREITAS, F. et al. Microbial polysaccharide-based membranes: current and future applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 6, 2014.

FREITAS, F.; TORRES, C. A.; REIS, M. A. Engineering aspects of microbial exopolysaccharide production. **Bioresource technology**, v. 245, p. 1674-1683, 2017.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations (FDA Orange Book). Jan 2024. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/approved-drug-products-therapeutic-equivalence-evaluations-orange-book>. Acesso em: 12 jan. 2024.

GALVÁN, Z. R. N. et al. Rheological properties of aqueous dispersions of xanthan gum containing different chloride salts are impacted by both sizes and net electric charges of the cations. **Food Biophysics**, v. 13, p. 186-197, 2018.

GIDWANI, B.; VYAS, A. Synthesis, characterization and application of epichlorohydrin- β -cyclodextrin polymer. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 114, p. 130-137, 2014.

GORDILLO-GALEANO, A.; MORA-HUERTAS, C. E. Hydrodynamic diameter and zeta potential of nanostructured lipid carriers: Emphasizing some parameters for correct measurements. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 620, p. 126610, 2021.

- GRACIA, L. H. et al.. Studies on a novel combination polymer system: in vitro erosion prevention and promotion of fluoride uptake in human enamel. **journal of dentistry**, v. 38, p. S4-S11, 2010.
- GROVES, E.; CHAW, C. S. Incorporation of calcium salts into xanthan gum matrices: Hydration, erosion and drug release characteristics. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 41, n. 10, p. 1608-1616, 2015.
- GULCHEXRA, U.; DILMUROD, J. USING THE STATE-OF THE ART TECHNIQUES OF TEACHING BY CLASSIFICATION REPAIRING AND RECOVERING PROCESS OF SKIN BY BIOPOLYMERS IN MEDICAL AND ENGINEERING EDUCATION. **Universum: технические науки**, n. 10-5 (91), p. 43-46, 2021.
- GUO, Y. et al.. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in Staphylococcus aureus. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 107, 2020.
- GUTIERREZ CISNEROS, C.; BLOEMEN, V.; MIGNON, A. Synthetic, natural, and semisynthetic polymer carriers for controlled nitric oxide release in dermal applications: a review. **Polymers**, v. 13, n. 5, p. 760, 2021.
- HANNA, D. H.; SAAD, G. R. Encapsulation of ciprofloxacin within modified xanthan gum-chitosan based hydrogel for drug delivery. **Bioorganic Chemistry**, v. 84, p. 115-124, 2019.
- HASHEMI, M. M.; AMINLARI, M.; MOOSAVINASAB, M. Preparation of and studies on the functional properties and bactericidal activity of the lysozyme-xanthan gum conjugate. **LWT-Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 594-602, 2014.
- HEYDARI, A. et al. Water-soluble β -cyclodextrin polymers as drug carriers to improve solubility, thermal stability and controlled release of nifedipine. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 51, p. 375-383, 2017.
- HE, Z.-x. et al. Doxycycline and hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex in poloxamer thermal sensitive hydrogel for ophthalmic delivery. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 1, n. 4, p. 254-260, 2011.
- HOU, J. et al. Extracellular polymeric matrix production and relaxation under fluid shear and mechanical pressure in Staphylococcus aureus biofilms. **Applied and environmental microbiology**, v. 84, n. 1, p. e01516-01517, 2018.
- JACOB, S.; NAIR, A. B. Cyclodextrin complexes: Perspective from drug delivery and formulation. **Drug development research**, v. 79, n. 5, p. 201-217, 2018.
- JAMBHEKAR, S. S.; BREEN, P. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. **Drug discovery today**, v. 21, n. 2, p. 356-362, 2016.
- JANSOOK, P.; OGAWA, N.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. **International journal of pharmaceutics**, v. 535, n. 1-2, p. 272-284, 2018.

JOSEPH, T. M. et al. Macromolecules: Contemporary Futurist Thoughts on Progressive Journey. **Eng**, v. 4, n. 1, p. 678-702, 2023.

KABIR, S. F. et al.. Occurrence, distribution, and structure of natural polysaccharides. *In: Radiation-processed polysaccharides*. Elsevier, p. 1-27, 2022.

KARAYIL, J. et al. Micellar growth in cetylpyridinium chloride/alcohol system: role of long chain alcohol, electrolyte and surfactant head group. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 19, n. 4, p. 849-860, 2016.

KARIKALAN, V.; PANNEERSELVAM, A.; VALLALPERUMAN, K. Physico—Chemical Analysis on Cetylpyridinium Chloride (Cpc) with Alcohol Solution at Different Temperatures—Ultrasonic, UV and FTIR Analysis. **Dig. J. Nanomater. Bios**, v. 13, p. 115-128, 2018.

KELLY, S. A. et al. Gut check time: Antibiotic delivery strategies to reduce antimicrobial resistance. **Trends in biotechnology**, v. 38, n. 4, p. 447-462, 2020.

KHALID, I. et al. Formulation and in vitro evaluation of mucoadhesive controlled release matrix tablets of flurbiprofen using response surface methodology. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, p. 493-504, 2014.

KHAN, F.; KHAN, M. M.; KIM, Y.-M. Recent progress and future perspectives of antibiofilm drugs immobilized on nanomaterials. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 19, n. 8, p. 631-643, 2018.

KHAN, N.; BRETTMANN, B. Intermolecular interactions in polyelectrolyte and surfactant complexes in solution. **Polymers**, v. 11, n. 1, p. 51, 2018.

KONG, B. J.; KIM, A.; PARK, S. N. Properties and in vitro drug release of hyaluronic acid-hydroxyethyl cellulose hydrogels for transdermal delivery of isoliquiritigenin. **Carbohydrate polymers**, v. 147, p. 473-481, 2016.

KREUTER, J.; SPEISER, P. P. New adjuvants on a polymethylmethacrylate base. **Infection and Immunity**, v. 13, n. 1, p. 204-210, 1976.

KURKOV, S. V.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins. **International journal of pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 167-180, 2013.

LANGDON, A.; CROOK, N.; DANTAS, G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. **Genome medicine**, v. 8, p. 1-16, 2016.

LEMOIS, J. et al. The biology of *Streptococcus mutans*. **Microbiology spectrum**, v. 7, n. 1, p. 10.1128/microbiolspec. gpp1123-0051-2018, 2019.

LIU, Y.; LI, Y.; SHI, L. Controlled drug delivery systems in eradicating bacterial biofilm-associated infections. **Journal of controlled release**, v. 329, p. 1102-1116, 2021.

- LTIFI, I. et al. Physicochemical characteristics of organophilic clays prepared using two organo-modifiers: alkylammonium cation arrangement models. **Applied Water Science**, v. 8, p. 1-8, 2018.
- LUO, Y.; WANG, Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **International journal of biological macromolecules**, v. 64, p. 353-367, 2014.
- LYNCH, K. M. et. al. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: isolation, properties, characterization, and health benefits. **Annual review of food science and technology**, v. 9, p. 155-176, 2018.
- MAHJOUB, H. F.; AOUISSI, Z.; OTHMAN, T. Influence of carboxymethylcellulose (NaCMC) on the aggregation and micellization behaviors in aqueous cetylpyridinium chloride solutions: Thermodynamic study and effect of polymer concentration. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, p. 473-486, 2018.
- MALIK, N. S.; AHMAD, M.; MINHAS, M. U. Cross-linked β -cyclodextrin and carboxymethyl cellulose hydrogels for controlled drug delivery of acyclovir. **PloS one**, v. 12, n. 2, p. e0172727, 2017.
- MENEZES, J. et. al. Produção biotecnológica de goma xantana em alguns resíduos agroindustriais, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, n. 8, p. 1761-1776, 2012.
- MIRANDA, Thiago Mourão de. **Composições nanoestruturadas de cloreto de cetilpiridínio com b-ciclodextrina: síntese, caracterização físico-química e avaliação da interação com *staphylococcus aureus***. 2020. 90 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Juiz de Fora Campus Governador Valadares, Governador Valadares, 2020.
- MIRANDA, T. M. et al. Mechanisms of interaction of Cetylpyridinium chloride with *Staphylococcus aureus* in the presence of β -cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 205-215, 2020.
- MIRTIC, J. et al. Development of cetylpyridinium-alginate nanoparticles: A binding and formulation study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 511, n. 2, p. 774-784, 2016.
- MISRA, N. et al. Atmospheric pressure cold plasma improves viscosifying and emulsion stabilizing properties of xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 82, p. 29-33, 2018.
- MOHAMMED, A. S. A.; NAVEED, M.; JOST, N. Polysaccharides; classification, chemical properties, and future perspective applications in fields of pharmacology and biological medicine (a review of current applications and upcoming potentialities). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, p. 2359-2371, 2021.
- MOKHTARZADEH, A. et al. Bacterial-derived biopolymers: Advanced natural nanomaterials for drug delivery and tissue engineering. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 82, p. 367-384, 2016.

MOREIRA, Ana Maria dos Santos. **Composições nanoestruturadas de avermectinas com β -ciclodextrina: síntese, caracterização físico-química e avaliação da atividade contra larvas do *Aedes aegypti***. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais da Universidade Federal de São João Del-rei, Universidade Federal de São João Del-rei, São João Del-rei, 2016.

MUANKAEW, C.; LOFTSSON, T. Cyclodextrin-based formulations: a non-invasive platform for targeted drug delivery. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 122, n. 1, p. 46-55, 2018.

NAVABI, N. et al. Side effects and short effects of using three common mouthwashes on oral health and quality of life: A quasi-experimental study. **International Journal of Dental Hygiene**, 2023.

NICOLAS, I. et al. Novel antibiotics effective against gram-positive and-negative multi-resistant bacteria with limited resistance. **PLoS biology**, v. 17, n. 7, p. e3000337, 2019.

OPREA, A.-M. et al. Evaluation of the controlled release ability of theophylline from xanthan/chondroitin sulfate hydrogels. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 4, p. 123-131, 2013.

PARK, H.; OTTE, A.; PARK, K. Evolution of drug delivery systems: From 1950 to 2020 and beyond. **Journal of Controlled Release**, v. 342, p. 53-65, 2022.

PARK, K. Controlled drug delivery systems: past forward and future back. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 3-8, 2014.

PATEL, J. et al. Xanthan gum derivatives: Review of synthesis, properties and diverse applications. **RSC advances**, v. 10, n. 45, p. 27103-27136, 2020.

PEPPAS, N. A.; NARASIMHAN, B. Mathematical models in drug delivery: How modeling has shaped the way we design new drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 75-81, 2014.

PIERI, F. A. et al. Use of β -caryophyllene to combat bacterial dental plaque formation in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2016.

PIRAS, A. M. et al. Antibacterial, antibiofilm, and antiadhesive properties of different quaternized chitosan derivatives. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 24, p. 6297, 2019.

POSOTTO, B. et al. Polysaccharides for the delivery of antitumor drugs. **Materials**, v. 8, n. 5, p. 2569-2615, 2015.

PRECHTL, R. M. et al. Structural characterization of the surface-associated heteropolysaccharide of *Lactobacillus plantarum* TMW 1.1478 and genetic analysis of its putative biosynthesis cluster. **Carbohydrate polymers**, v. 202, p. 236-245, 2018.

REAL, D. A. et al. Cyclodextrin-modified nanomaterials for drug delivery: Classification and advances in controlled release and bioavailability. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2131, 2021.

RENARD, E. et al. Preparation and characterization of water soluble high molecular weight β -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. **European polymer journal**, v. 33, n. 1, p. 49-57, 1997.

RISSI, N. C. et al.. Relationship between composition and organizational levels of nanostructured systems formed by Oleth 10 and PPG-5-Ceteth-20 for potential drug delivery. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, p. 653-661, 2014.

ROCHA, J. C. B. Estrutura e termodinâmica de formação dos complexos de polímero de β -ciclodextrina com surfactantes iônicos e efeito da associação do polímero com cadeias de DNA. 2016.

ROKAYA, D. et al. materials and films in dentistry: An overview. **Journal of advanced research**, v. 14, p. 25-34, 2018.

SAADAT, Y. R.; KHOSROUSHAHI, A. Y.; GARGARI, B. P. A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. **Carbohydrate polymers**, v. 217, p. 79-89, 2019.

SALIH, M. et al. Supramolecular amphiphiles of beta-cyclodextrin and oleylamine for enhancement of vancomycin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 574, p. 118881, 2020.

SANTOS, D. K. F. et al. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 3, p. 401, 2016.

SAOKHAM, P.; LOFTSSON, T. γ -Cyclodextrin. **International journal of pharmaceutics**, v. 516, n. 1-2, p. 278-292, 2017.

SARA, H. et al. New alkylated xanthan gum as amphiphilic derivatives: Synthesis, physicochemical and rheological studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1207, p. 127768, 2020.

SESLIJA, S. et al. Physico-chemical evaluation of hydrophobically modified pectin derivatives: Step toward application. **International journal of biological macromolecules**, v. 113, p. 924-932, 2018.

SETHI, S. et al. Cross-linked xanthan gum–starch hydrogels as promising materials for controlled drug delivery. **Cellulose**, v. 27, p. 4565-4589, 2020.

SIGMA Aldrich. 2024. Disponível em:
<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sigma/c4767>. Acesso em: 14 jan. 2024.

SMITH, P. J. et al. Enzymatic synthesis of artificial polysaccharides. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 32, p. 11853-11871, 2020.

STERZENBACH, T. et al. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. **Clinical oral investigations**, v. 24, p. 4237-4260, 2020.

SUÁREZ, D. F. et al. Structural and thermodynamic characterization of doxycycline/ β -cyclodextrin supramolecular complex and its bacterial membrane interactions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 118, p. 194-201, 2014.

SULTANA, N.; ISMAIL, K. Specific ion effects of chloride vis-à-vis acetate, propionate and butyrate counterions on the cetylpyridinium headgroup at the micelle-solution and air-solution interfaces. **Journal of Molecular Liquids**, v. 213, p. 145-152, 2016.

TIBBITT, M. W.; DAHLMAN, J. E.; LANGER, R. Emerging Frontiers in Drug Delivery. **J Am Chem Soc**, v. 138, n. 3, p. 704-717, Jan 27 2016.

TONG, S. Y. et al. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661, 2015.

TURNBULL, W. B.; DARANAS, A. H. On the value of c : can low affinity systems be studied by isothermal titration calorimetry? **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 48, p. 14859-14866, 2003.

WANG, B. et al. Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 3, p. 472-481, 2009.

WANG, C.-S. et al. Synergistic gelation of gelatin B with xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 374-383, 2016.

WISEMAN, T. et al. Rapid measurement of binding constants and heats of binding using a new titration calorimeter. **Analytical biochemistry**, v. 179, n. 1, p. 131-137, 1989.

WOLTER, A. et al. Evaluation of exopolysaccharide producing Weissella cibaria MG1 strain for the production of sourdough from various flours. **Food microbiology**, v. 37, p. 44-50, 2014.

YAO, Q. et al. Inclusion complexes of cypermethrin and permethrin with monochlorotriazinyl- β -cyclodextrin: A combined spectroscopy, TG/DSC and DFT study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 576-586, 2014.

YEON, L. S.; YOUNG, L. S. Susceptibility of oral streptococci to chlorhexidine and cetylpyridinium chloride. **Biocontrol science**, v. 24, n. 1, p. 13-21, 2019.

YILDIZ, A.; KARA, A. A.; ACARTURK, F. Peptide-protein based nanofibers in pharmaceutical and biomedical applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 148, p. 1084-1097, 2020.

YUN, Y. H.; LEE, B. K.; PARK, K. Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. **Journal of Controlled Release**, v. 219, p. 2-7, 2015.

ZARE, E. N. et al. Antimicrobial gum bio-based nanocomposites and their industrial and biomedical applications. **Chemical Communications**, v. 55, n. 99, p. 14871-14885, 2019.

ZHANG, C. et al. Thermodynamic analysis of hydrogen-bonded polymer complexation with isothermal titration calorimetry. **Polymer**, v. 256, p. 125196, 2022.

ZHANG, D. et al. Delivery of curcumin using a zein-xanthan gum nanocomplex: Fabrication, characterization, and in vitro release properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 204, p. 111827, 2021.

ZHANG, N.; WARDWELL, P. R.; BADER, R. A. Polysaccharide-based micelles for drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p. 329-352, 2013.

ZHANG, Q. et al. Synthesis and performance characterization of poly (vinyl alcohol)-xanthan gum composite hydrogel. **Reactive and Functional Polymers**, v. 136, p. 34-43, 2019.

ZHANG, Y. et al. Erythrocyte membrane-coated nanogel for combinatorial antivirulence and responsive antimicrobial delivery against *Staphylococcus aureus* infection. **Journal of Controlled Release**, v. 263, p. 185-191, 2017.

ZHENG, S. et al. Implication of surface properties, bacterial motility, and hydrodynamic conditions on bacterial surface sensing and their initial adhesion. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 643722, 2021.