

Desenvolvimento e Otimização da Formulação de Nanopartículas de Polimetil Metacrilato Para Entrega Veterinária de Progesterona e Ivermectina

Oswaldo Valarini Junior ¹, Paulo Cardozo Carvalho de Araújo ², André Luis Gomes Simões ³, Lauro Bucker Neto ⁴, Aline Coqueiro ⁴, Fernanda Vitória Leimann ⁵, Odinei Hess Gonçalves ⁵, Fabiano Guimarães Silva ² e Willyan Machado Giufrida ⁶

¹ Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Instituto Federal Goiano Campus - Rio Verde, Rio Verde, 75901-970, Goiás, Brasil.

² Instituto Federal Goiano, IF Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde, 75901-970, Goiás, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, 87020-900, Paraná, Brasil.

⁴ Departamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, 84030-900, Paraná, Brasil.

⁵ Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, 87301-899, Paraná, Brasil.

⁶ Faculdade de Engenharia e Arquitetura (FEITEP), Maringá, 87070-130, Paraná, Brasil.

ABSTRACT

O objetivo principal deste estudo foi produzir e otimizar nanopartículas de polimetil metacrilato (PMMA) via processo emulsão simples seguida de evaporação. Os compostos utilizados foram clorofórmio, lecitina, progesterona, ivermectina e PMMA na fase orgânica e água e poliacetato de vinila (PVA) na fase aquosa. As NPs/P₄ tiveram um diâmetro de $154,3 \pm 0,1$ nm e as NPs/I_M $184,1 \pm 0,1$. A otimização desse diâmetro ocorreu por uma superfície de resposta de Box-Behnken. As partículas formadas foram caracterizadas pelas técnicas de MET, MEV, TGA/DTA e FT-Raman para a determinação da morfologia, resistência térmica e elucidar sua estrutura conformacional.

Palavras-chave: Polimetil Metacrilato, Ivermectina, Progesterona, Emulsão Simples, Nanopartículas, Otimização.

Received 2022-02-07

Revised 2022-03-16

Accepted 2022-04-04

Published 2022-04-11

Corresponding Author Oswaldo Valarini Junior,

osvaldo.valarini@ifgoiano.edu.br

orcid.org/0000-0003-0150-9928

Page e-location ID: e022002

Distributed under: CC BY-NC 4.0

Copyright: Autores

INTRODUÇÃO

A aglomeração de animais aumentou a ocorrência de infecções por verminoses e por ectoparasitoses, como carrapatos, berne e sarnas. Nesse contexto, a ivermectina (I_M) enquadra-se na classe das avermectinas, que apresentam características hidrofóbicas e estão na classe de drogas antiparasitárias [1].

A I_M tem função no controle de doenças endoparasitas e ectoparasitas [2, 3]. A dose de administração da I_M é muito pequena comparada com outros anti-helmínticos. Isso é justificado pelo seu uso extensivo no tratamento de infecções parasitárias de animais [3]. O modo de ação do fármaco é atribuído a agonizar os canais de cloretos do parasita, fechados pelo ácido gama-amino-butírico (GABA) presentes nas células neuromusculares dos invertebrados [4]. No entanto, é possível que a toxicidade seja levada em consideração, principalmente a neurotoxicidade da maioria das espécies de mamíferos [3].

OPEN ACCESS

How to cite this article (APA): Valarini Junior, O., Cardozo Carvalho de Araújo, P., Gomes Simões, A. L., Bucker Neto, L., Coqueiro, A., Hess Honçalves, O., Guimarães Silva, F., & Machado Giufrida, W. (2022). Desenvolvimento e Otimização da Formulação de Nanopartículas de Polimetil Metacrilato Para Entrega Veterinária de Progesterona e Ivermectina. *Engineering & Technology Scientific Journal*, 01(01), e022002

Nesse cenário, há também a necessidade do uso de técnicas de reprodução animal, as inseminações artificiais em tempo fixo têm sido utilizada para a sincronização do estro dos animais [5]. Durante os protocolos de inseminação artificial e tempo fixo, as elevações de progesterona (P_4) são alcançadas pelo aumento do número de corpo lúteo dos animais [6].

A sincronização do estro do gado é um passo importante para a reprodução animal eficiente e sustentável [5]. O principal problema é a compreensão do mecanismo de sincronização, porque a P_4 , antes da inseminação artificial, afeta a fertilidade, mas também contribui para o desenvolvimento de estratégias de suplementação que melhoram o desempenho reprodutivo e otimizam o uso de hormônios em vacas leiteiras [7]. Assim, uma das formas de otimizar a administração desses fármacos é encapsulado em nanopartículas (NPs). O polímero protege as condições fisiológicas, pH e degradação enzimática do fármaco encapsulado [8].

O mecanismo de liberação do fármaco é dependente do tamanho e distribuição de tamanho das NPs. A uniformidade da distribuição de tamanho das NPs padroniza a liberação do fármaco [9]. As NPs de Poli(metacrilato de metila) (PMMA) tem recebido considerável atenção por ser biocompatível, citotoxicidade baixa, inércia biológica, e baixo custo de síntese [10].

Existe a possibilidade de funcionalização múltipla para melhorar a seletividade e a capacidade de prolongar a semi-vida do medicamento no corpo humano ou animal em relação a droga livre [11]. Além disso, NPs administrados *in vivo* podem ser excretados em fezes até 80% (administração intraperitoneal) ou 100% (administração oral), sem toxicidade significativa para os animais [10, 12].

A técnica a ser utilizada para a formação de NPs é a MiniEmulsão Seguida de Evaporação (MESE). Os sistemas de miniemulsão são divididos em pré emulsificação de fases heterogêneas (emulsões brutas), homogeneização das emulsões brutas, e reações em miniemulsões para preparar as NPs [13]. Esta técnica é aplicada para mecanismo de nucleação, cinética de reação e mecanismo de estabilização [13, 14].

A estabilização do sistema de miniemulsões exige um alto cisalhamento para alcançar um estado estacionário, e têm uma tensão interfacial muito maior do que zero [15]. O solvente pode ser evaporado sob pressão reduzida através de evaporador rotativo, ou por simples agitação à temperatura ambiente. A evaporação do solvente orgânico da fase dispersa leva as miniemulsões a um ponto de insolubilidade em fase aquosa, e consequentemente, enrijecimento do polímero encapsulando [16].

A aplicação do poliacetato de vinila (PVA) vem sendo utilizada para a estabilização de partículas carregadas de íons em superfície polimérica. Os surfactantes mantêm a estabilidade coloidal posterior a formação de gotículas conduzidas no processo de sonificação [17]. Estes também tem como função estabilizar as cargas iônicas das NPs [18], diminuir a tensão interfacial do sistema líquido, e estabilizar as emulsões de síntese de NPs [19].

A lecitina é considerada um excipiente seguro e biocompatível, já foi amplamente aplicada em indústrias alimentares, farmacêuticas e cosméticas. Consiste em uma estrutura vertebral de glicerina esterificada com ácidos graxos e um grupo fosfato, e tem uma boa emulsificação, propriedade amplamente utilizada em emulsões alimentares [20, 21].

Pesquisas recentes relataram que sistemas a base de lecitina podem ser transportadores adequados para bioativos [20]. Zhao et al. [22] utilizou a técnica MESE e o polímero PMMA para encapsular corante, o menor diâmetro médio de partícula obtido foi de 83,27 nm. Silva-Buzanello et al. [23] via técnica MESE obteve diâmetro médio de partícula de 200 nm. Leimann et al. [24] encapsulou a P₄ via a técnica MESE, e obteve diâmetro médio de 217,5 nm. Xu Xia et al. [25] obtiveram microcápsulas de I_M, e El-gizawy et al. [26] otimizaram o diâmetro médio de partícula pelo planejamento Box-Behnken de três variáveis.

Neste estudo, usando a técnica MESE, foi utilizado o planejamento fatorial do tipo Box-Behnken para avaliar o diâmetro médio de partícula e encapsulamento das NPs de P₄ em PMMA (NPs/P₄), e o encapsulamento de I_M em PMMA (NPs/I_M) [27]. O estudo avaliou em qual condição a mistura PVA/lecitina/PMMA obteve o menor diâmetro médio de partícula e a maior eficiência de encapsulação (EE%) dos fármacos (P₄ e I_M). Além disso, foram realizadas análises de morfologia, resistência térmica e mudança na estrutura conformacional das moléculas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

PMMA (MM = 120,000 g.mol⁻¹), poli acetato de vinila (PVA) (pureza ≥ 99%, MM = 86 g.mol⁻¹), CHCl₃ (pureza ≥ 99%, MM = 119,80 g.mol⁻¹), metanol e acetonitrila (pureza ≥ 99,9%) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (Brasil). A lecitina foi adquirida pela (Alfa Aesar, Brazil). A P₄ (pureza ≥ 99,9%) foi gentilmente doado pela Indústria Genix Farmacêutica LTDA (Brazil), e a I_M (purity ≥ 97,5%, MM = 875,1 g.mol⁻¹) foi adquirida pela Hebei Veyong Animal Pharmaceutical (China).

Métodos de Formação de NPs

As NPs foram preparadas de acordo com o procedimento adaptado de Musyanovych et al. [28] e Leimann et al. [24].

A fase orgânica foi preparada com a dissolução de PMMA, lecitina e fármaco em 10 g de clorofórmio. Depois agitou-se esta solução por aproximadamente 2 min. A fase aquosa foi preparada dissolvendo o PVA em 24 g de água durante 15 min. Ambas as fases foram preparadas à temperatura ambiente (≈ 25 °C).

Posteriormente a fase aquosa foi adicionada à fase orgânica formando a macroemulsão. Esta foi mantida sob agitação magnética vigorosa durante 60 segundos, e, em seguida, realizou-se a miniemulsificação por meio de um sonificador (Fisher-Scientific – Ultrasonic Dismembrator 500, 400 W com ponta de 1/4) durante 180 segundos, a 70% de amplitude em um regime de pulso (30 s sonificação, 10 s pausa).

Utilizou um banho de gelo para resfriar o sistema, e, em seguida, o sistema foi transferido para um erlenmeyer com capacidade de 250 mL, e mantido sob agitação em um *shaker* com temperatura de 30 °C por 24 h para evaporação do clorofórmio.

Análise do Tamanho de Partícula

O tamanho de partícula foi medido por espalhamento de luz dinâmico. O diâmetro médio de partícula foi determinado a partir de distribuições de tamanhos pesados em volume de intensidade. Os dados foram processados com o uso de um equipamento Zetasizer Range (Reino Unido).

Análise Estatística

Utilizou-se um planejamento fatorial do tipo Box-Behnken de três fatores aplicados para a otimização do diâmetro médio de partícula. A otimização foi realizada no software R-Studio.

Os testes entre as variáveis lecitina (x_1), PMMA (x_2) e PVA (x_3) foram preparados em 15 experimentos e apresentados na Tabela 1. Depois foram geradas as equações polinomiais relacionando as variáveis dependentes e independentes, o processo foi otimizado para o diâmetro médio de partícula da emulsificação.

Eficiência de Encapsulação e Rendimento de Carregamento do Fármaco

A eficiência de encapsulação foi analisada por meio de um HPLC utilizando a coluna C-18. As condições para análise do teor dos fármacos foram realizadas em fase móvel: metanol-água (50 : 50), fluxo: 1 mL.min⁻¹, comprimento de onda: 240 nm para o P₄, e 241 nm para a I_M, temperatura do forno de 30 °C, e volume injetado de 5 µL. Para a determinação da curva-padrão foi utilizado P₄ e I_M em metanol puro.

As amostras das NPs foram diluídas em metanol:acetona (concentração 1,0 µg.µL⁻¹) e alíquotas de 5 µL foram injetadas no HPLC. A EE% foi calculada a partir da Eq. (1) [24].

$$EE\% = \frac{(m_{TP} - m_{AP})}{m_0} * 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde m_{TP} a massa encontrada no HPLC, m_{AP} é a massa das nanopartículas, e m_0 a massa total adicionada na formulação.

Os rendimento de carregamento dos fármacos foram calculados a partir da Eq (2):

$$\text{Rendimento} = \frac{m_{TP}}{m_0} \quad (\text{Eq. 2})$$

Caracterização Térmica, Morfológica e Espectral das Nanopartículas

As NPs carregadas de P₄ e I_M foram examinadas em suspensão de água e subsequente depositada em grades de cobre (Formvar/Carbon Support Film, 100 mesh, 3,05 mm de diâmetro, TAAB) e analisado em um microscópio eletrônico de transmissão.

As grades foram lavadas com água estéril, coradas negativamente, isto é, contraste de amostra com um fluido opticamente opaco, onde este tem o fundo manchado, deixando o espécime real intocado e, portanto, visível, o fluido esterilizado foi diluído em solução de acetato de urânio.

A morfologia das NPs foi obtida pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e realizado com microscópio eletrônico de varredura ambiental (SCIOS - USA). As amostras foram distribuídas uniformemente em fita adesiva, metalizadas, e inseridas no equipamento a um potencial de 15 kV sob baixo vácuo.

Os espectros das substâncias puras e NPs foram realizados por Transformada de Fourier Raman (FT-RAMAN). Utilizou-se um espectrofotômetro (vertex modelo 70v com módulo Ram II, Bruker, Alemanha), e equipado com um sensor de germânio refrigerado com azoto líquido. Foi utilizado um laser de 1064 nm com potência nominal variando 5 até 200 mV para excitação. As bandas típicas foram registradas na faixa de $4000\text{-}4\text{cm}^{-1}$.

As análises térmicas foram analisadas pesando aproximadamente 2 mg das amostras e colocando-as em porta amostras de alumínio. Manteve-se sob um fluxo atmosférico de N_2 a $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, e uma taxa de aquecimento constante de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ na faixa de temperatura de $25\text{ }^\circ\text{C}$ a $600\text{ }^\circ\text{C}$. Os perfis da análise de análise diferencial de temperatura (DTA) e análise termogravimétrica (TGA) foram obtidos usando o analisador térmico Netzsch STA 409PC (Netzsch Corporation, Alemanha).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os experimentos realizados e o diâmetro médio de partícula para as NPs/P₄ e NPs/I_M. Em ambos os experimentos foram conduzidos sob as mesmas condições. Observa-se que o experimento que obteve melhor resultado para as NPs/P₄ foi o experimento 10. Este obteve um diâmetro médio de partícula de 154,3 nm, e seu índice de polidispersão (PDI) foi de aproximadamente (\pm) 0,1 nm. Isto pode ser justificado pelo fato deste experimento ter utilizado menor quantidade de polímero, menor quantidade de lecitina, e maior quantidade de PVA.

Altas quantidades de PVA não interferem no tamanho de partícula [29]. Além disso, maior quantidade mássica PVA diminui a tensão interfacial da água. Isto mantém partículas monodispersas [30]. O PMMA, a lecitina e a P₄ são as fases internas de uma emulsão óleo/água. Desta forma, para se estabilizar a fase interna (orgânica), menores quantidades mássicas desta fase ocuparam menor espaço em um sistema [31].

Analisando o diâmetro médio da I_M, observa-se que o experimento 10 também foi o que obteve menor diâmetro médio de partícula (184,1 nm), devido aos mesmos fatores que a P₄, baixa quantidade de lecitina e PMMA, e a maior quantidade mássica de PVA no experimento. A diferença entre as faixas de tamanhos de partículas dos fármacos de uma mesma técnica, é que a I_M tem maior massa molecular ($875,1\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) que a P₄ ($314,47\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Todas as NPs/I_M tiveram diâmetro médio de partícula maior que as NPs/P₄.

Os resultados dos diâmetro médio de partícula foram otimizados usando o software R-Studio que forneceu informações consideráveis, e reafirmou a utilidade do projeto estatístico para condução dos experimentos.

Tabela 1. Planejamento fatorial do tipo Box-Behnken de três fatores.

Experimento	Lecitina (g/g _{pol})	PMMA (g/g _{CHCL3})	PVA% (g/100g _{H2O})	$Z_{Média}$ (nm) ± 0.1	
	x ₁	x ₂	x ₃	P ₄ ± PDI	I _M ± PDI
1	0,150 – (-1)	0,01 – (-1)	4 – (0)	180,6 ± 0,07	190,1 ± 0,07
2	0,150 – (-1)	0,10 – (1)	4 – (0)	225,7 ± 0,09	233,9 ± 0,10
3	0,600 – (1)	0,01 – (-1)	4 – (0)	170,7 ± 0,11	187,0 ± 0,09
4	0,600 – (1)	0,10 – (1)	4 – (0)	233,5 ± 0,15	260,0 ± 0,15
5	0,150 – (-1)	0,05 – (0)	2 – (-1)	225,5 ± 0,10	243,0 ± 0,11
6	0,150 – (-1)	0,05 – (0)	6 – (1)	180,2 ± 0,11	195,0 ± 0,09
7	0,600 – (1)	0,05 – (0)	2 – (-1)	240,2 ± 0,14	240,1 ± 0,10
8	0,600 – (1)	0,05 – (0)	6 – (1)	183,8 ± 0,14	200,3 ± 0,13
9	0,376 – (0)	0,01 – (-1)	2 – (-1)	189,3 ± 0,10	205,7 ± 0,13
10	0,376 – (0)	0,01 – (-1)	6 – (1)	154,3 ± 0,13	184,1 ± 0,06
11	0,376 – (0)	0,10 – (1)	2 – (-1)	270,2 ± 0,15	284,5 ± 0,20
12	0,376 – (0)	0,10 – (1)	6 – (1)	206,1 ± 0,08	212,9 ± 0,11
13	0,376 – (0)	0,05 – (0)	4 – (0)	199,4 ± 0,08	206,5 ± 0,09
14	0,376 – (0)	0,05 – (0)	4 – (0)	196,6 ± 0,10	195,0 ± 0,10
15	0,376 – (0)	0,05 – (0)	4 – (0)	192,6 ± 0,10	205,4 ± 0,10

A superfície de resposta (ver Figura 1) foi utilizada para transformar as variáveis em fatores e otimizar os experimentos laboratoriais como a variável resposta. A equação polinomial de segunda ordem (Eqs. 3 e 4) descreve a relação entre as variáveis significativas e tamanho de partícula de pelo modelo ajustado [32]. Os fatores que afetaram o diâmetro médio de partícula foram x₂ (PMMA) e x₃ (PVA). Estes diâmetros de NPs podem ser explicados pela Eq. (3) (NPs/P₄) e Eq. (4) (NPs/I_M).

$$Z_{Médio} (nm) = 196,2 + 30,07x_2 - 25,1x_3 - 7,27x_2x_3 \quad (\text{Eq. 3})$$

$$Z_{Médio} (nm) = 206,4 + 28x_2 - 22,6x_3 + 12,5x_2x_3 + 10,12x_2x_3 \quad (\text{Eq. 4})$$

A validação estatística das equações polinomiais foram estabelecidas pelo resultado da ANOVA disponível no software. O coeficiente de correlação R² ajustado foi de 0,9484 e 0,9417 respectivamente. Os termos da equação acima mostra uma combinação de fatores de segunda ordem. Estes fatores representam interação e relações quadráticas.

O tamanho das NPs foi diretamente proporcional ao PMMA e inversamente proporcional à concentração de PVA, isto é, ao aumentar o PMMA e diminuir a concentração de PVA o tamanho de NPs aumentou. Isto pode ser devido ao fato de que o aumento da concentração de polímero poderia levar a um aumento na viscosidade da fase orgânica, formando nanogotas com tamanho maior [33]. Este efeito foi encontrado nos estudos de Budhian [34] e Quintanar-Guerrero [35].

O aumento da concentração de PVA causou novas reduções no tamanho médio das NPs [34]. Hao et al. [31] relata que o surfactante deve ser aumentado devido à redução induzida da tensão superficial entre a fase aquosa e a fase orgânica que o surfactante

ocasiona no sistema. O autor também relata que a diminuição do polímero contribui para a não coalescência das nanopartículas. Leroux et al. [35] diz que esta coalescência justifica a lei de Stokes. Porque existe uma diferença entre a fase aquosa e fase orgânica.

Na Figura 1 é verificado que os menores diâmetros de partículas encontra-se na região vermelha. Quanto menor x_2 e maior x_3 menor será o diâmetro de partícula.

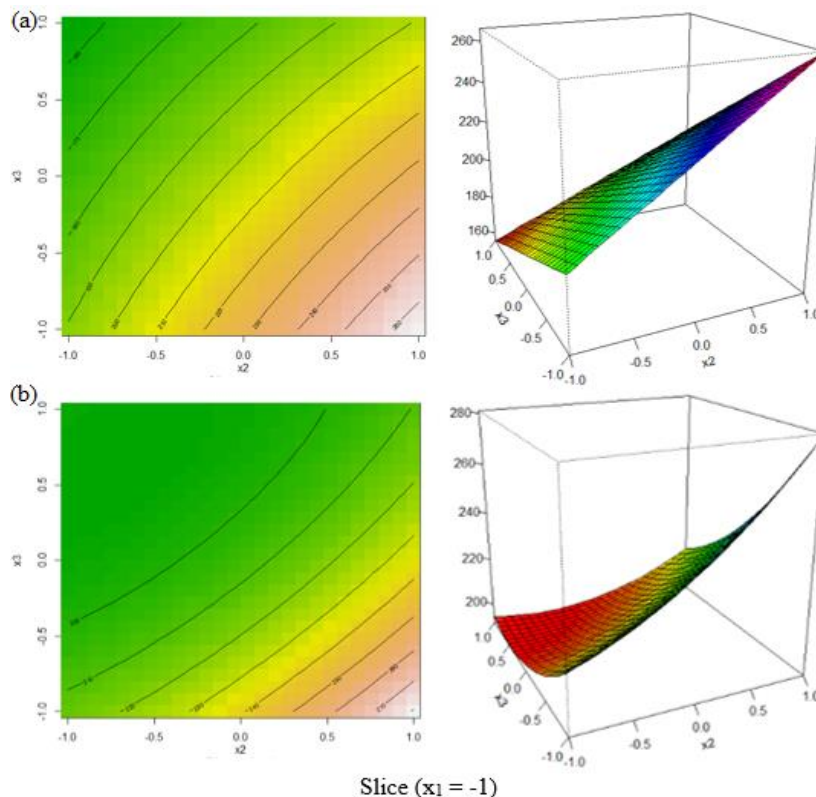


Figura 1. Gráfico de superfície de resposta mostrando o efeito da quantidade de PMMA (x_2) e níveis de surfactante (x_3) na média z . NP/ P_4 (a). NP/ I_M (b).

A eficiência de encapsulação (EE%) e o rendimento de carga de drogas das NPs/ P_4 e NPs/ I_M são determinadas pelo HPLC apresentada na Tabela 2. No HPLC mede-se a percentual de P_4 e I_M realizando a dissolução destes fármacos das NPs de PMMA. Todas as medições de EE% não houveram perda durante o processo de formação de NPs (p-valor > 0,05).

A técnica de evaporação do solvente é uma técnica adequada para encapsular fármacos. O rendimento de cargas foi calculada com base na proporção percentual do rendimento real de carga de drogas para rendimento teórico de carga de drogas. O baixo rendimento de cargas neste experimento tiveram como consequência a baixa encapsulação das nanopartículas de mistura. Isto pode ser comparado com Kwon et al. [36] que utilizou o PMMA como encapsulante. Neste, a encapsulação da droga dentro do PMMA foi de 68 a 78%. Musyanovych et al. [28] aprisionou fármacos em partículas de polímero sólido e obteve uma porcentagem de aprisionamento de 18 a 70%, e Kozaki et al. [37] avaliou o carregamento de drogas de 10,4% a 122,4% com a variação de PVA, polímero e condições de operação.

Neste estudo a maior EE% ocorreu no experimento 5 e 9, e a menor eficiência ocorreu no experimento 10 (ver Tabela 2).

Tabela 2. Eficiência de encapsulação (EE%) e o rendimento de carga de drogas das NPs/P₄

Experimento	Rendimento de Carregamento		EE(%)	
	P ₄	I _M	P ₄	I _M
1	6,50	1,54	34,84	29,82
2	4,52	3,09	36,19	31,68
3	6,49	3,50	31,88	31,04
4	5,17	5,14	36,45	34,57
5	4,46	6,15	40,00	38,54
6	2,43	3,49	24,14	26,05
7	5,86	3,51	38,36	32,71
8	3,83	4,29	24,16	25,23
9	5,33	0,51	38,56	35,41
10	0,99	4,67	18,07	24,02
11	5,34	5,12	38,33	37,41
12	3,48	2,68	36,87	30,35
13	5,95	3,13	34,98	35,13
14	5,08	2,41	33,68	36,03
15	7,22	3,23	35,50	31,35

As EE% dos experimentos deste estudo foram menores comparados ao trabalho de Mendes et al. [38], o qual obteve uma eficiência de encapsulamento de 98,7% utilizando a técnica de miniemulsão e o polímero PMMA. Esta baixa EE% pode ser justificado pelo estudo Herrman et al. [39] que relata que a EE% é inversamente proporcional ao diâmetro médio de partícula. Faradi Esfanjani et al. [40] relacionaram o percentual de encapsulação do composto desejado com a técnica de síntese de NPs poliméricas, a quantidade de surfactante, como o PVA, e ao polímero a ser utilizado. Li et al. [41] estudaram a diminuição do EE% das drogas com as propriedades físico-químicas do PVA, porque a variação das quantidades do PVA variam a EE% de 17,5% a 90%.

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) realizada na superfície da amostra mostra partículas poliméricas coradas com PMMA, e núcleos de P₄ e I_M mais escuros com excelente estabilidade e dispersão das partículas. As relações de partículas de PMMA menos coradas, e são características deste composto [42].

A Figura 2 indica que as NPs de PMMA e nanocápsulas apresentaram morfologia esférica e distribuição de tamanho regular de nanopartículas e nanocápsulas encapsuladas [43]. A técnica de miniemulsão aumenta a estabilidade do sistema [44]. Além do mais, a pressão osmótica seria suficiente para impedir o amadurecimento de Ostwald, o que aumenta a estabilidade da miniemulsão [44, 45].

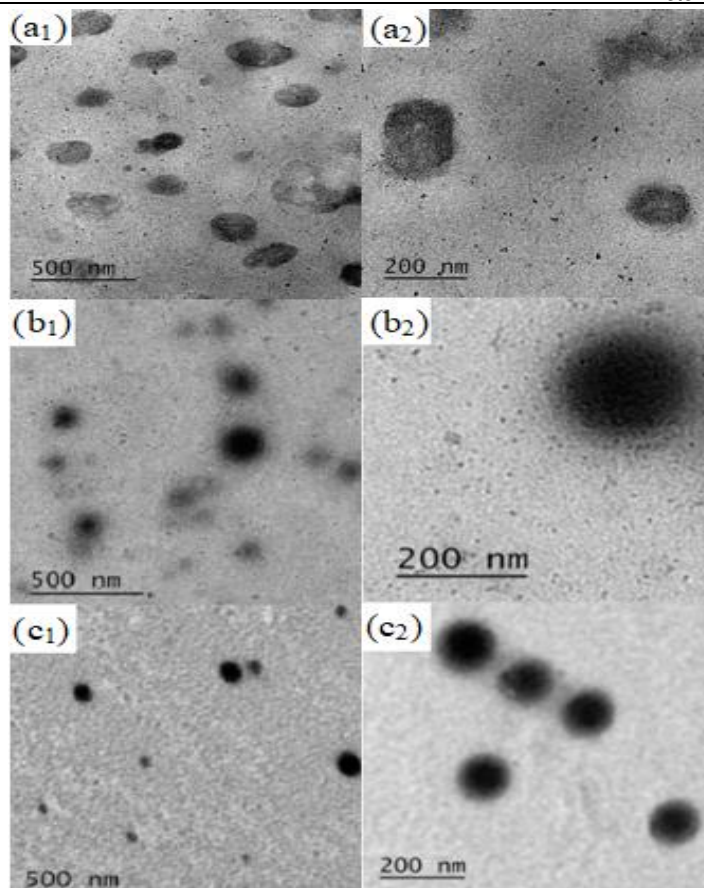


Figura 2. Microscopia Eletrônica de Transmissão: NP (a); NP/P₄ (b); NP/Im (c).

Na Figura 3 são apresentadas as alterações morfológicas em diferentes magnitudes das NPs. A formação de partículas utilizando somente clorofórmio, PVA e lecitina estabilizam as cargas superficiais [46]. O clorofórmio puro tende a formar estruturas moleculares complexas/aglomerados [47].

Na Figura 3 são apresentadas as formas esféricas da PMMA após o processamento de emulsão seguida de evaporação. A fonte de energia da emulsão decorre principalmente de turbulências interfaciais, intimamente relacionadas com o gradiente de tensão superficial induzido no processo de formação de NPs [48]. A barreira estérica fornecida pela forte adsorção das NPs na interface óleo-água faz com que seja tenha menores agregados de NPs, pois existe uma maior adsorção interfacial [49]. Do mesmo modo, as interfaces estão sujeitas a ondas capilares de origens térmicas. Estas se amplificadas aumentam a tensão superficial do sistema desconfigurando a forma esférica da nanopartícula [50].

O estado físico das partículas é de grande importância no ponto de vista biofarmacêutico, pois no estado sólido, matrizes lipídicas não tem problema com estabilidade, e a coalescência em dispersões para este tipo de técnica são baixas [51]. Alguns espectros na Figura 4 sofrem variações tanto no número de onda como na intensidade quando há inclusão da molécula hóspede [52–54].

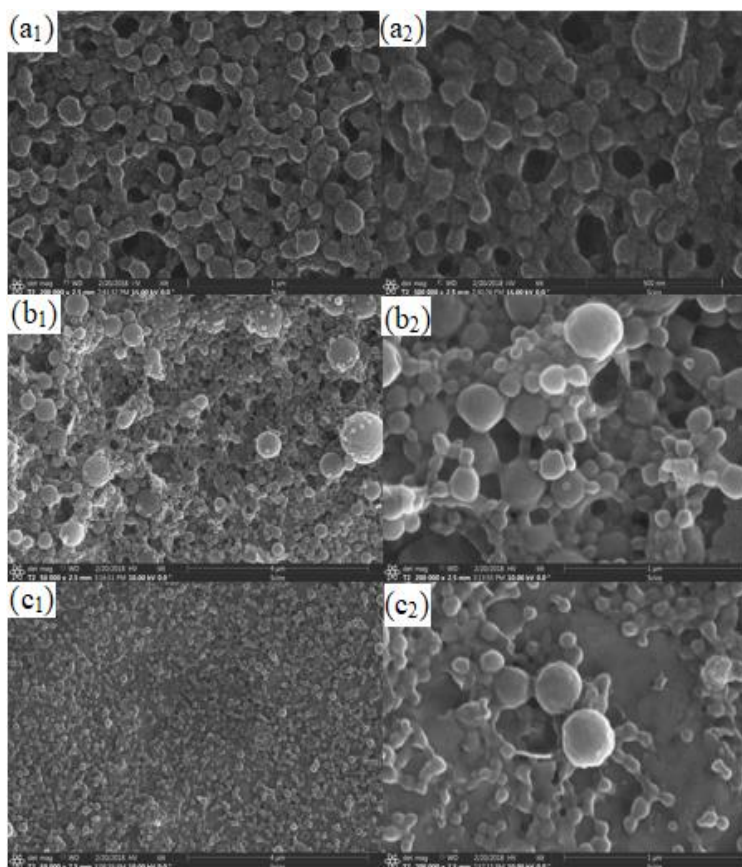


Figura 3. Microscopia Eletrônica de Varredura: NP (a); NP/P₄ (b); NP/Im (c).

O pico de absorção de energia com número de onda de 2800 a 2900 cm^{-1} na Figura 4 [a₂ - b₂] são característicos das ligações C-H. Nesse intervalo de número de onda, houve uma sobreposição de intensidades de absorção. Isso indica a encapsulação dos fármacos, porque nesta região as ligações da lecitina -CH₂ e -CH₃, e -CH₂ do PVA ligam-se aos fármacos modificando o comprimento de onda. Por exemplo, o número de onda PVA sem o encapsulamento é 2914. Posterior ao encapsulamento, este modifica seu comprimento de onda para 2912 cm^{-1} . Tal variação no número de onda pode ser decorrente dos diferentes radicais ligados ao grupo C-O-C dos analitos que se dispõem ou sequestram a nuvem eletrônica, provavelmente devido à diferença de eletronegatividade [55]. Os picos de absorção na região de 1600 a 1800 cm^{-1} na Figura 4 [a₁ - b₁] são característicos das ligações de alongamento (C=O) dos anéis aromáticos dos fármacos.

A partícula hospedeira quando ligada aos fármacos comprova sua existência diminuindo esta absorção de energia e modificando seu comprimento de onda. A Figura 4 [a₂] mostra uma alta absorção desse número de onda em 1612 cm^{-1} e 1662 cm^{-1} , e depois do encapsulamento desloca o primeiro pico para 1606 cm^{-1} e diminui consideravelmente a absorção do segundo pico. Para a Im, ocorre a mesma situação para os picos 1629 cm^{-1} e 1675 cm^{-1} . Isso indica que as ligações intermoleculares nas metodologias de encapsulamento entre a NPs e fármacos ficaram menos tensionadas. Isso induz a afirmar que os comprimentos de onda vibram numa intensidade menos energética do que nos fármacos puros.

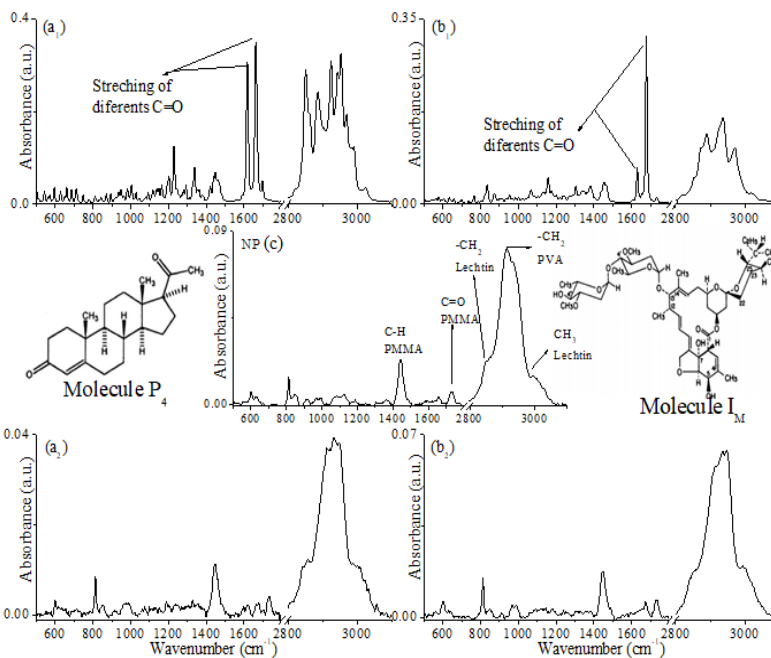


Figura 4. FT-Raman: P₄ pura (a₁); Im pura (b₁); NP (c); NP/P₄ (d); NP/Im (e).

Desta forma, foram feitos ajustes de parâmetros da função de Gauss nestas bandas, e obtidos resultados para cada composto (ver Figura 5). Vale lembrar que a diminuição da área está associada à vibração da molécula, e caso essa molécula não vibre significa que o fármaco foi incluída com maior estabilidade. Um teste típico válido para detectar quantitativamente a formação de compostos de inclusão consiste em comparar a área sob alguns picos encontrados seguida da encapsulação.

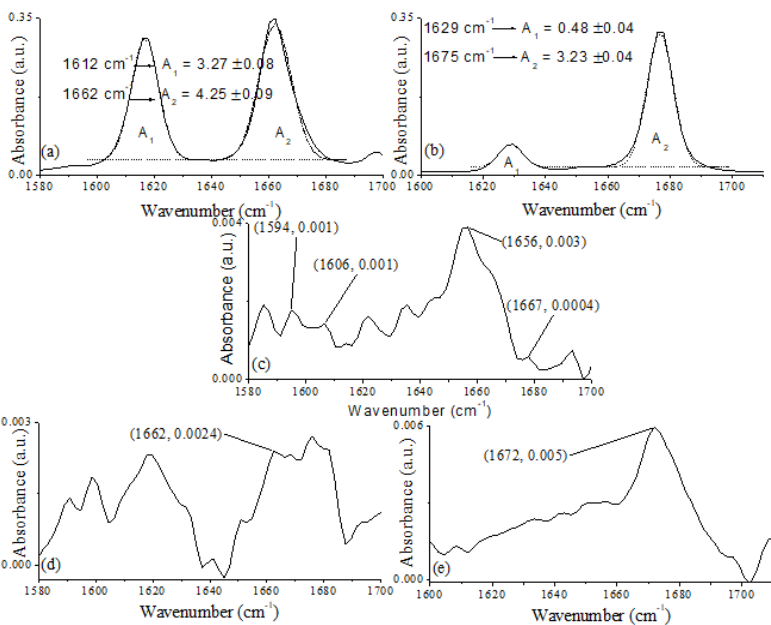


Figura 5. FT-Raman: P₄ pura (a₁); Im pura (b₁); NP (c); NP/P₄ (d); NP/Im (e). Linhas contínuas: medições experimentais; Linhas tracejadas: calculadas com a função Gaussiana.

Com essa finalidade, os picos em 1612 cm^{-1} e 1662 cm^{-1} da P_4 e 1629 cm^{-1} e 1675 cm^{-1} da I_M foram interpretados como marcadores destes composto. A área das bandas de absorção desses grupos em todas as amostras examinadas foi computada e apresentada na Figura 5. Foi feita ajustando os parâmetros da função Gaussiana nos resultados da absorvância (linhas sólidas na Figura 4) e integração das curvas Gaussianas (linhas tracejadas na Figura 5) [55–57].

As significativas diferenças entre a área abaixo da curva na Figura 5 [a] ($3,27 + 4,25 = 7,52$ a.u.) e Figura 4 [b] ($0,48 + 3,23 = 3,71$ a.u.) aquelas nas Figura 5 [d] a 5 [e] suportam todas as circunstâncias examinadas que houve encapsulação dos fármacos na NPs de PMMA. Todas as áreas obtiveram um $R^2 \geq 0,9999$. Também é importante ressaltar que o motivo para se entender que a encapsulação é aprimorada quando a área sob as bandas é reduzida é porque os fármacos deverão vibrar menos se for melhor encapsulado na partícula de PMMA [55].

Os resultados da perda de massa das análises de TGA/DTA na Figura 6 [a – e] são discutidos em vista dos fenômenos físicos e de energia exo e endotérmicos. Esses processos também são utilizados para medir as características de difusão e absorção de umidade. Na Figura 6 a temperatura de $54,1\text{ }^\circ\text{C}$ ocorre uma diminuição da massa para 96,41% da NPs sem fármaco. Esta perda de massa geralmente refere-se a perda de água por desidratação [58].

A NPs sem fármaco tem sua degradação térmica em duas etapas. A primeira inicia-se em $251,8\text{ }^\circ\text{C}$ e termina em $396,7\text{ }^\circ\text{C}$ com um percentual de 44,88% de massa. A segunda inicia-se em $396,7\text{ }^\circ\text{C}$ e termina em $504,7\text{ }^\circ\text{C}$ com um percentual de massa de 7,10 %.

Mishra et al [59] e Rajendran et al. [60] estudaram a decomposição em duas etapas do PVA, e foi termicamente estável até $265\text{ }^\circ\text{C}$. Gilman et al. [61] observou que a temperatura de $300\text{ }^\circ\text{C}$ o PMMA teve 50% de perda de massa. Zhang et al. [62] e Jin et al. [63] avaliaram a perda mássica total em um intervalo de $320\text{ }^\circ\text{C}$ a $430\text{ }^\circ\text{C}$. Nirmala et al. [64] mostra em seu estudo que a lecitina é estável termicamente até $210\text{ }^\circ\text{C}$. Desta forma as duas etapas de degradação das NPs ocorrem por ela perder seu isolamento térmico superficial [65]. Isso diminui a barreira de volatilidade, aumentando o transporte de massa entre as NPs e o calor [66].

A P_4 tem a decomposição total entre faixa de temperatura de $232,2\text{ }^\circ\text{C}$ a $421,2\text{ }^\circ\text{C}$. Essa decomposição está representada em forma de energia pelo DTA. A I_M tem perda percentual de massa de 3,16%, isso ocorre em função da temperatura de [67]. A temperatura $164,1\text{ }^\circ\text{C}$ tem uma transição endotérmica devido à evaporação de compostos com baixo ponto de ebulição [68].

Este fármaco tem uma perda mássica de 49,33% a uma faixa de temperatura entre $173,3$ a $330,3\text{ }^\circ\text{C}$. Isso é interpretado como o início da degradação térmica da amostra. Estas degradações iniciais dos fármacos são iniciadas pela quebra das ligações superficiais dos compostos [69,70]. No último evento, o percentual de perda de massa é de 43,49%. É o fim da degradação térmica da amostra [67].

Observa-se na Figura 6 as curvas de DTA que os picos extremos são deslocados devido a ligação dos compostos [71]. Isso indica a encapsulação de fármacos. Os picos endotérmicos a $133,5\text{ }^\circ\text{C}$ para a P_4 e $164,1\text{ }^\circ\text{C}$ para a I_M não apresentam sinal depois de encapsulado. O

deslocamento da temperatura 501 °C em ambos os fármacos são deslocados posterior a encapsulação (ver Figura 6). Os picos endotérmicos 413,3 °C (P₄) e 439,3 °C (I_M) e exotérmicos da NPs sem fármaco 287,9 °C também são deslocados depois de encapsulado justificando a encapsulação do fármaco [55].

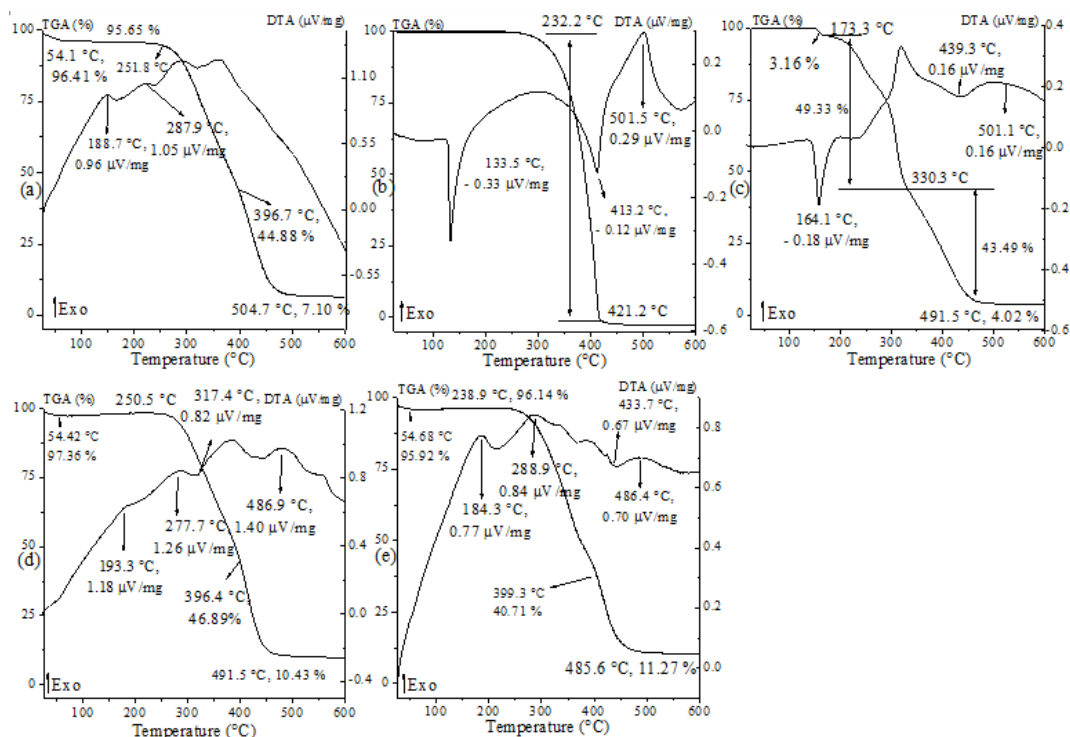


Figura 6. TGA/DTA: NP (a); P₄ (b); I_M (c); NP/P₄ (d); NP/I_M (e).

Além da diminuição dos picos a diminuição da perda mássica depois de encapsulado indica a redução do coeficiente térmico de interação NPs/fármaco e calor [65]. Isto pode ser resultado das ligações C-O e C=O do PMMA com a estrutura da lecitina [72]. A encapsulação de fármacos em NPs pode ser uma vantagem relevante para diminuição de perda de massa e aumento da resistência térmica.

CONCLUSÃO

Partículas nanométricas de PMMA foram produzidas por meio do processo de emulsão simples seguida de evaporação. Este processo modificou a estrutura conformacional da NPs/P₄ e NPs/I_M, a morfologia da partícula e aumentou a resistência térmica do composto. As condições dos experimentos permitiram avaliar qual a melhor condição para produzir o menor diâmetro médio de partícula e maximizar a EE%.

O experimento 10 foi a condição em que obteve-se o menor diâmetro médio de partícula produzido. As condições do experimento 10 obtiveram diâmetros médios de partícula menores que Kwon et al. [36] que utilizou o mesmo polímero para a formação de nanopartículas.

Apesar disso, o experimento 10 obteve a menor EE%, e o experimento 5 e 9 as

maiores EE%. A otimização do diâmetro de partícula contribui para a escolha da melhor eficiência e para a quantidade de cada material a ser utilizado. Desta forma, considera-se que a melhor condição operacional o experimento 9, por apresentar um diâmetro médio próximo do ideal, e EE% muito maior que a do experimento 10.

REFERÊNCIAS

- [1] I. S. Chen, Y. Kubo, Ivermectin and its target molecules: shared and unique modulation mechanisms of ion channels and receptors by ivermectin, *J. Physiol* 0 (2017) 1–13.
- [2] M. Edmonds, E. Johnson, J. Edmonds, Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States, *Vet. Parasitol* (2010).
- [3] M. S. Panayotova-Pencheva, Ivermectin-Behandlung von Endoparasiten bei Wildtieren in Menschenobhut: Eine Übersicht 85 (2016) 280–308.
- [4] H. Alout, B. D. Foy, Ivermectin: a complimentary weapon against the spread of malaria?, *Expert Rev. Anti. Infect. Ther* 15 (2017) 231–240.
- [5] I. M. Helbling, C. A. Busatto, S. A. Fioramonti, J. I. Pesoa, L. Santiago, D. A. Estenez, J. A. Luna, Preparation of TPP-crosslinked chitosan microparticles by spray drying for the controlled delivery of progesterone intended for estrus synchronization in cattle, *Pharm. Res* 35 (2018) 66–66.
- [6] M. C. Wiltbank, A. H. Souza, P. D. Carvalho, A. P. Cunha, J. O. Giordano, P. M. Fricke, G. M. Baez, M. G. Diskin, Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle, *Animal* 8 (2014) 70–81.
- [7] R. S. Bisinotto, I. J. Lean, W. W. Thatcher, J. E. P. Santos, Meta-analysis of progesterone supplementation during timed artificial insemination programs in dairy cows, *J. Dairy Sci* 98 (2015) 2472–2487.
- [8] C. Varan, H. Wickström, N. Sandler, Y. Aktaş, E. Bilensoy, Inkjet printing of antiviral PCL nanoparticles and anti-cancer cyclodextrin inclusion complexes on bioadhesive film for cervical administration, *Int. J. Pharm* 531 (2017) 701–713.
- [9] V. Weiss-Angeli, F. S. Poletto, L. R. Zancan, F. Baldasso, A. R. Pohlmann, S. S. Guterres, Nanocapsules of octyl methoxycinnamate containing quercetin delayed the photodegradation of both components under ultraviolet A radiation, *J. Biomed. Nanotechnol* 4 (2008) 80–89.
- [10] B. Adinolfi, M. Pellegrino, A. Giannetti, S. Tombelli, C. Trono, G. Sotgiu, G. Varchi, M. Ballestri, T. Posati, S. Carpi, P. Nieri, F. Baldini, Molecular beacon-decorated poly-methylmethacrylate core-shell fluorescent nanoparticles for the detection of survivin mRNA in human cancer cells, *Biosens. Bioelectron* 88 (2017) 15–24.
- [11] J. Kim, Y. M. Lee, Y. Kang, W. J. Kim, Tumor-homing, size-tunable clustered nanoparticles for anticancer therapeutics, *ACS Nano* 8 (2014) 9358–9367.
- [12] M. S. Falzarano, E. Bassi, C. Passarelli, P. Braghetta, A. Ferlini, Biodistribution Studies of Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery in Mice, *Hum. Gene Ther* 25 (2014) 927–928.
- [13] D. Qi, Z. Cao, U. Ziener, Recent advances in the preparation of hybrid nanoparticles in miniemulsions, *Adv. Colloid Interface Sci* 211 (2014) 47–62.
- [14] J. M. Asua, Miniemulsion polymerization, *Prog. Polym. Sci* 27 (2002) 1283–1346.
- [15] B. V. N. Nagavarma, H. K. S. Yadav, A. Ayaz, L. S. Vasudha, H. G. Shivakumar, Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles - A review, *Asian J. Pharm. Clin. Res* 5 (2012) 16–23.
- [16] M. Iqbal, N. Zafar, H. Fessi, A. Elaissari, Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation, *Int. J. Pharm* 496 (2015) 173–190.
- [17] K. Landfester, M. Antonietti (2004).
- [18] G. Tresset, C. Marculescu, A. Salonen, M. Ni, C. Iliescu, Fine control over the size of surfactant-polyelectrolyte nanoparticles by hydrodynamic flow focusing, *Anal. Chem* 85 (2013) 5850–5856.
- [19] D. Rousseau, Fat crystals and emulsion stability - A review, *Food Res. Int* 33 (2000) 3–14.
- [20] L. Dai, C. Sun, R. Li, L. Mao, F. Liu, Y. Gao, Structural characterization, formation mechanism and stability of curcumin in zein-lecithin composite nanoparticles fabricated by antisolvent co-precipitation, *Food Chem* 237 (2017) 1163–1171.
- [21] J. Xue, Q. Zhong, Blending lecithin and gelatin improves the formation of thymol nanodispersions, *J. Agric. Food Chem* 62 (2014) 2956–2962.
- [22] X. Zhao, Q. Meng, J. Liu, Q. Li, Hydrophobic dye/polymer composite colorants synthesized by miniemulsion solvent evaporation technique, *Dye. Pigment* 100 (2014) 41–49.
- [23] R. A. Silva-Buzanello, A. C. Ferro, E. Bona, L. Cardozo-Filho, P. H. H. D. Araújo, F. V. Leimann, O. H. Gonçalves, Validation of an Ultraviolet-visible (UV-Vis) technique for the quantitative determination of curcumin in poly(l-lactic acid) nanoparticles, *Food Chem* 172 (2015) 99–104.
- [24] F. V. Leimann, M. H. Biz, K. C. Kaufmann, W. J. Maia, O. H. Honçalves, L. C. Filho, C. Sayer, P. H. H. D. Araújo, Characterization of progesterone loaded biodegradable blend polymeric nanoparticles, *Ciência Rural* 45 (2015)

- 2082–2088.
- [25] S. Z. X. Xia, Zeng-Zai, Y. Liu, Studies on Preparation Techniques of Ivermectin Liposomes, *J. Hunan Agric. Univ. Sci* (2004).
- [26] S. A. El-Gizawy, B. O. Hagan, N. Irwin, P. A. McCarron, Effect of poly(ethylene glycol) content and formulation parameters on particulate properties and intraperitoneal delivery of insulin from PLGA nanoparticles prepared using the double-emulsion evaporation procedure, *Pharm. Dev. Technol* (2017) 0–0.
- [27] Y. Ding, J. Zheng, F. Zhang, J. Kan, Synthesis and characterization of retrograded starch nanoparticles through homogenization and miniemulsion cross-linking, *Carbohydr. Polym* 151 (2016) 656–665.
- [28] A. Musyanovych, J. Schmitz-Wienke, V. Mailänder, P. Walther, K. Landfester, Preparation of biodegradable polymer nanoparticles by miniemulsion technique and their cell interactions, *Macromol. Biosci* 8 (2008) 127–139.
- [29] K. H. Tseng, C. J. Chou, T. C. Liu, D. C. Tien, T. C. Wu, L. Stobinski, Interactive Relationship between Silver Ions and Silver Nanoparticles with PVA Prepared by the Submerged Arc Discharge Method, *Adv. Mater. Sci. Eng* (2018).
- [30] I. Riva'i, L. O. Wulandari, H. Sulistyarti, A. Sabarudin, Ex-Situ Synthesis of Polyvinyl alcohol (PVA)-coated Fe₃O₄ Nanoparticles by Coprecipitation-Ultrasonication Method, *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng* 299 (2018) 12065–12065.
- [31] J. Hao, X. Fang, Y. Zhou, J. Wang, F. Guo, F. Li, X. Peng, Development and optimization of solid lipid nanoparticle formulation for ophthalmic delivery of chloramphenicol using a Box-Behnken design, *Int. J. Nanomedicine* 6 (2011) 683–692.
- [32] Y. Ding, J. Zheng, X. Xia, T. Ren, J. Kan, Box-Behnken design for the optimization of nanoscale retrograded starch formation by high-power ultrasonication, *LWT - Food Sci. Technol* 67 (2016) 206–213.
- [33] M. V. Shaikh, M. Kala, M. Nivsarkar, Formulation and optimization of doxorubicin loaded polymeric nanoparticles using Box-Behnken design: ex-vivo stability and in-vitro activity, *Eur. J. Pharm. Sci* 100 (2017) 262–272.
- [34] Y. A. Haggag, A. M. Faheem, M. M. Tambuwala, M. A. Osman, S. A. El-Gizawy, B. Hagan, N. Irwin, P. A. McCarron, Effect of poly(ethylene glycol) content and formulation parameters on particulate properties and intraperitoneal delivery of insulin from PLGA nanoparticles prepared using the double-emulsion evaporation procedure, *Pharm. Dev. Technol* (2017) 1–12.
- [35] J. C. Leroux, E. Allemann, E. Doelker, R. Gurny, New approach for the preparation of nanoparticles by an emulsification-diffusion method, *Eur. J. Pharm. Biopharm* 41 (1995) 14–18.
- [36] S. S. Kwon, Y. S. Nam, J. S. Lee, B. S. Ku, S. H. Han, J. Y. Lee, J. S. Chang, Preparation and characterization of coenzyme Q10-loaded PMMA nanoparticles by a new emulsification process based on microfluidization, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp* 210 (2002) 95–104.
- [37] S.-K. Kozaki, S. I. Kobayashi, Y. Goda, H. Okuda, Evaluating the Properties of Poly(lactic-co-glycolic acid) Nanoparticle Formulations Encapsulating a Hydrophobic Drug by Using the Quality by Design Approach, *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 3 (2017) 221–228.
- [38] A. N. Mendes, L. A. Filgueiras, M. R. P. Siqueira, G. M. Barbosa, C. Holandino, D. Moreira, J. C. Pinto, M. Nele, Encapsulation of Piper cabralanum (Piperaceae) nonpolar extract in poly(methyl methacrylate) by miniemulsion and evaluation of increase in the effectiveness of antileukemic activity in K562 cells, *Int. J. Nanomedicine* 12 (2017) 8363–8373.
- [39] J. Herrmann, R. Bodmeier, Somatostatin containing biodegradable microspheres prepared by a modified solvent evaporation method based on W/O/W-multiple emulsions, *Int. J. Pharm* 126 (1995) 129–138.
- [40] A. Esfanjani, S. M. Jafari, Biopolymer nanoparticles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds, *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 146 (2016) 532–543.
- [41] X. T. Li, J. H. Li, G. E. Zhang, G. X. Xi, X. D. Lou, Kinetic studies on the thermal dissociation of β -cyclodextrin-anisaldehyde inclusion complex, *Thermochim. Acta* 262 (1995) 165–173.
- [42] J. L. Luna-Xavier, E. Bourgeat-Lami, A. Guyot, The role of initiation in the synthesis of silica/poly(methyl methacrylate) nanocomposite latex particles through emulsion polymerization, *Colloid Polym. Sci* 279 (2001) 947–958.
- [43] P. E. Feuser, L. S. Bubniak, C. Bodack, A. Valério, M. C. Silva, E. Ricci-Júnior, C. Sayer, P. H. H. D. Araújo, In Vitro Cytotoxicity of Poly(Methyl Methacrylate) Nanoparticles and Nanocapsules Obtained by Miniemulsion Polymerization for Drug Delivery Application, *J. Nanosci. Nanotechnol* 16 (2016) 7669–7676.
- [44] P. E. Feuser, P. C. Gaspar, A. V. Jacques, A. C. Tedesco, M. C. D. S. Silva, E. Ricci-Júnior, C. Sayer, P. H. H. D. Araújo, Synthesis of ZnPc loaded poly(methyl methacrylate) nanoparticles via miniemulsion polymerization for photodynamic therapy in leukemic cells, *Mater. Sci. Eng. C* 60 (2016) 458–466.
- [45] M. Antonietti, K. Landfester, Polyreactions in miniemulsions, *Prog. Polym. Sci* 27 (2002) 689–757.
- [46] J. F. Osorio-Tobón, P. I. N. Carvalho, M. A. Rostagno, A. J. Petenate, M. A. A. Meireles, Precipitation of curcuminoids from an ethanolic turmeric extract using a supercritical antisolvent process, *J. Supercrit. Fluids* 108 (2016) 26–34.
- [47] B. Ormsby, T. Learner, The effects of wet surface cleaning treatments on acrylic emulsion artists' paints - a review of recent scientific research, *Stud. Conserv* 54 (2009) 29–41.
- [48] N. Anton, J. P. Benoit, P. Saulnier, Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates - A review, *J. Control. Release* 128 (2008) 185–199.

- [49] T.Sharma, G. S. Kumar, B. H. Chon, J. S. Sangwai, Thermal stability of oil-in-water Pickering emulsion in the presence of nanoparticle, surfactant, and polymer, *J. Ind. Eng. Chem* 22 (2015) 324–334.
- [50] C. A. Miller, Spontaneous Emulsification Produced by Diffusion - A Review, *Colloids and Surfaces* 29 (1988) 89–102.
- [51] M. Trotta, F. De Bernardi, O. Caputo, Preparation of solid lipid nanoparticles by solvent emulsification-diffusion technique, *Int. J. Pharm* 257 (2003) 153–160.
- [52] W.A. Lopes, M. Fascio, Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho, *Quim. Nova* 27 (2004) 670–673.
- [53] Y. Bai, J. Wang, M. Bashari, X. Hu, T. Feng, X. Xu, Z. Jin, Y. Tian, G. Castronuovo, M. Niccoli, J. G. Galvão, V. F. Silva, S. G. Ferreira, F. R. M. França, D. A. Santos, L. S. Freitas, P. B. Alves, A. A. S. Araújo, S. C. H. Cavalcanti, R. S. Nunes, N. Li, L. Xu, D. C. Marinescu, E. Pincu, I. Stanculescu, V. Meltzer, P. Xu, L. X. Song, H. M. Wang, Thermal analysis of β -cyclodextrin/Berberine chloride inclusion compounds, *Thermochim. Acta* 499 (2013) 62–69.
- [54] N. Li, L. Xu, Thermal analysis of β -cyclodextrin/Berberine chloride inclusion compounds, *Thermochim. Acta* 499 (2010) 166–170.
- [55] O. V. Junior, J. H. Dantas, C. E. Barão, E. F. Zanoelo, L. Cardozo-Filho, F. F. D. Moraes, Formation of inclusion compounds of (+)Catechin with β -Cyclodextrin in different complexation media: spectral, thermal and antioxidant properties, *J. Supercrit. Fluids* (2016).
- [56] S. R. Valentini, V. C. Fenelon, A. C. Nogueira, F. Sato, A. N. Medina, M. L. Baesso, R. G. Santana, G. Matioli, Insulin complexation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: Spectroscopic evaluation of molecular inclusion and use of the complex in gel for healing of pressure ulcers, *Int. J. Pharm* 490 (2015) 229–239.
- [57] Z. Aigner, O. Berkesi, G. Farkas, P. Szabó-Révész, DSC, X-ray and FTIR studies of a gemfibrozil/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complex produced by co-grinding, *J. Pharm. Biomed. Anal* 57 (2012) 62–67.
- [58] L. J. Yang, S. X. Ma, S. Y. Zhou, W. Chen, M. W. Yuan, Y. Q. Yin, X. D. Yang, Preparation and characterization of inclusion complexes of naringenin with β -cyclodextrin derivative, *Carbohydr. Polym* 98 (2013) 861–869.
- [59] R. Mishra, K. J. Rao, On the formation of poly(ethyleneoxide)-poly(vinylalcohol) blends, *Eur. Polym. J* 35 (1999) 1883–1894.
- [60] S. Rajendran, M. Sivakumar, R. Subadevi, Investigations on the effect of various plasticizers in PVA-PMMA solid polymer blend electrolytes, *Mater. Lett* 58 (2004) 641–649.
- [61] J. W. Gilman, Flammability and thermal stability studies of γ / 1 polymer layered-silicate clay nanocomposites, *APPLIED CLAY Sci* (1999) 31–49.
- [62] Y. Zhang, S. Zhuang, X. Xu, J. Hu, Transparent and UV-shielding ZnO@PMMA nanocomposite films, *Opt. Mater. (Amst)* 36 (2013) 169–172.
- [63] Z. Jin, K. P. Pramoda, G. Xu, S. H. Goh, Dynamic Mechanical Behavior of Melt-processed Multi-walled Carbon Nanotube/PMMA Composites, *Chem. Phys. Lett* 337 (2001) 186–191.
- [64] R. Nirmala, H. M. Park, R. Navamathavan, H. S. Kang, M. H. El-Newehy, H. Y. Kim, Lecithin blended polyamide-6 high aspect ratio nanofiber scaffolds via electrospinning for human osteoblast cell culture, *Mater. Sci. Eng. C* 31 (2011) 486–493.
- [65] S. Kango, S. Kalia, A. Celli, J. Njuguna, Y. Habibi, R. Kumar, Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites-A review, *Prog. Polym. Sci* 38 (2013) 1232–1261.
- [66] S. S. Ray, M. Okamoto, Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing, *Prog. Polym. Sci* 28 (2003) 1539–1641.
- [67] L. A. Rolim, F. C. M. Santos, L. L. Chaves, M. L. C. M. Gonçalves, J. L. Freitas-Neto, A. L. D. S. D. Nascimento, J. L. Soares-Sobrinho, M. M. D. Albuquerque, M. D. C. A. D. Lima, P. J. Rolim-Neto, Preformulation study of ivermectin raw material, *J. Therm. Anal. Calorim* 120 (2015) 807–816.
- [68] G. Bruylants, J. Wouters, C. Michaux, Differential Scanning Calorimetry in Life Science: Thermodynamics, Stability, Molecular Recognition and Application in Drug Design, *Curr. Med. Chem* 12 (2005) 2011–2020.
- [69] T. Kashiwagi, A. Inaba, J. E. Brown, K. Hatada, T. Kitayama, E. Masuda, Effects of Weak Linkages on the Thermal and Oxidative Degradation of Poly(Methyl Methacrylates), *Macromolecules* 19 (1986) 2160–2168.
- [70] Y. H. Hu, C. Y. Chen, C. C. Wang, Viscoelastic properties and thermal degradation kinetics of silica/PMMA nanocomposites, *Polym. Degrad. Stab* 84 (2004) 545–553.
- [71] M. Wesolowski, Analysis of drug formulations by thermal decomposition, *Thermochim. Acta* 209 (1992) 223–251.
- [72] S. Kang, S. Hong, C. R. Choe, M. Park, S. Rim, J. Kim, Preparation and characterization of epoxy composites filled with functionalized nanosilica particles obtained via sol-gel process, *Polymer (Guildf)* 42 (2001) 879–887.